AstraZeneca

第 2 部　CTD の概要

一般名：オシメルチニブメシル酸塩

版番号：[redacted]

2.4 非臨床試験の概括評価

タグリッソ®錠

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

	目次	2
	略語及び専門用語一覧表	4
2.4.1	非臨床試験計画概略	6
2.4.2	薬理試験	9
2.4.2.1	効力を裏付ける試験	9
2.4.2.2	副次的薬理試験	13
2.4.2.3	安全性薬理試験	13
2.4.3	薬物動態試験	14
2.4.3.1	まとめ	14
2.4.3.2	分析法	15
2.4.3.3	吸収	15
2.4.3.4	曝露量の動物種間比較	16
2.4.3.5	分布	16
2.4.3.6	代謝	17
2.4.3.7	代謝物の薬理活性	20
2.4.3.8	排泄	20
2.4.3.9	薬物相互作用	20
2.4.3.9.1	薬物相互作用の結果の解釈	20
2.4.3.9.2	CYP を介する薬物相互作用の可能性	21
2.4.3.9.3	薬物トランスポーターを介する薬物相互作用の可能性	21
2.4.3.9.4	UDP グルクロン酸転移酵素（UGT）を介する薬物相互作用の可能性	22
2.4.3.10	薬物動態試験のまとめ	22
2.4.4	毒性試験	23
2.4.4.1	反復投与毒性試験	24
2.4.4.2	トキシコキネティクス	25
2.4.4.3	遺伝毒性試験	26
2.4.4.4	がん原性試験	26
2.4.4.5	生殖発生毒性試験	26
2.4.4.6	その他の毒性試験	27
2.4.4.6.1	光毒性の評価	27

2.4.4.6.2　代謝物の毒性評価 27
2.4.4.6.3　不純物の毒性評価 27
2.4.4.7　毒性試験の考察 28
2.4.5　総括及び結論 32
2.4.5.1　作用機序及び副次的薬理標的 32
2.4.5.2　主要な安全性薬理所見 32
2.4.5.3　重要な毒性所見 33
2.4.5.4　曝露量についての考察 34
2.4.5.5　薬物－薬物間相互作用の可能性 35
2.4.5.6　結論 35
2.4.6　参考文献 35

表目次

表 1　*In vitro* における EGFR リン酸化に対する AZD9291 の作用 10
表 2　動物における 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験での最大耐量並びにヒトに 80 mg の用量を投与したときの定常状態における AZD9291 の平均曝露量 16
表 3　マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞とともに AZD9291 を 5 μM の濃度で 60 分間インキュベーションしたときに生成した代謝物の概要（ヒト代謝物の動物種間比較のみを示す） 18
表 4　AZD9291 の 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で検討した最大耐量並びにラットに AZ5104 を投与した 1 カ月間探索毒性試験における AZ5104 及び AZ7550 の平均曝露量とヒトにおける曝露量の比較 19

図目次

図 1　AZD9291 並びに血漿中代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の構造 18

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
AKT	Also known as PKB (Protein Kinase B)：別名 PKB（プロテインキナーゼ B）
ATP	Adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸
AUC	Area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity：投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AURA	Study D5160C00001 Phase I component in EGFR T790M+ advanced NSCLC patients who have progressed following prior therapy with an EGFR-TKI agent ± chemotherapy：上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤による治療後に進行が認められた進行非小細胞肺癌患者を対象とした、AZD9291 の安全性、忍容性、薬物動態、及び抗腫瘍効果を評価する非盲検用量漸増多施設共同第 I/II 相試験
BCRP	Breast cancer resistance protein
C_{max}	Maximum plasma drug concentration：最高血漿中薬物濃度
CMC	Chemistry, manufacturing and controls：化学、製造及び品質管理
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
Cys	Cysteine：システイン
EGF	Epidermal Growth Factor：上皮成長因子
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor：上皮成長因子受容体
EGFR(L858R)	Epidermal Growth Factor Receptor with L858R activating mutation：L858R 活性化変異を有する上皮成長因子受容体
EGFR(Ex19Del)	Epidermal Growth Factor Receptor with Exon19Deletion activating mutation：エクソン 19 欠失活性化変異を有する上皮成長因子受容体
EGFRm	Epidermal Growth Factor Receptor (containing activating/sensitising mutation)：活性化変異／感受性変異を有する上皮成長因子受容体
EGFRm/T790M	Epidermal Growth Factor Receptor (containing activating mutation with T790M resistance mutation：活性化変異及び T790M 耐性変異を有する上皮成長因子受容体
ErbB	Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog：赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	Human Ether-a-go-go-related Gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2 (also known as ErbB2)：ヒト上皮成長因子受容体 2（別名 ErbB2）
HER3	Human epidermal growth factor receptor 3 (also known as ErbB3)：ヒト上皮成長因子受容体 3（別名 ErbB3）
HER4	Human epidermal growth factor receptor 4 (also known as ErbB4)：ヒト上皮成長因子受容体 4（別名 ErbB4）
IC_{50}	Concentration giving 50% of the drug-induced inhibitory effect：50%阻害作用を示す濃度

略語及び専門用語	用語の説明
ICH	International Conference on Harmonisation：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IGF1R	Insulin-like Growth Factor Receptor-1：インスリン様成長因子 1 受容体
InsR	Insulin receptor：インスリン受容体
K_i	Inhibition constant：阻害定数
MATE	Multidrug and toxin extrusion
MTD	Maximum tolerated dose：最大耐量
NSCLC	Non Small Cell Lung Cancer：非小細胞肺癌
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic aniontransporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
TKI	Tyrosine kinase inhibitor：チロシンキナーゼ阻害剤
UGT	UDP glucuronosyltransferase：UDP グルクロン酸転移酵素

2.4.1　非臨床試験計画概略

上皮成長因子受容体（EGFR）は、受容体チロシンキナーゼ ErbB ファミリーに属し、そのファミリーには EGFR（ErbB1）、HER2（ErbB2）、HER3（ErbB3）及び HER4（ErbB4）が含まれている。生理的条件下において、リガンド結合により異なる受容体間でヘテロ及びホモ二量体が形成され、続いてそれらが活性化される。HER2 は同族リガンドのないオーファン受容体であると考えられているが、他の ErbB ファミリーメンバーとヘテロ二量体を形成することにより、リガンド介在性シグナル伝達に大きく関与している。受容体が二量体を形成し、活性化されると、それらの C 末端のチロシン残基がリン酸化され、ホスホリパーゼ Cγ、CBL、GRB2、SHC 及び p85 といった種々のアダプター蛋白質の特異的な結合部位として働くようになる。そして、これらのアダプター蛋白質が、PI3K/AKT、RAS-MAPK 及び STAT3 といったシグナル伝達経路を活性化することにより、細胞増殖、アポトーシス及び転移が促進される（Mitsudomi and Yatabe 2010）。

EGFR の活性化変異（EGFRm）が生じると、EGFR はリガンド非依存的かつ恒常的にリン酸化され、発癌シグナル伝達が活性化される。進行非小細胞肺癌（NSCLC）患者のうち、EGFRm を有する患者は欧米で約 15%及びアジアで約 30%である（Pao et al 2010）。EGFRm 腫瘍の約 90%で、エクソン 19 における数個のヌクレオチドのインフレーム欠失（Ex19del）又はエクソン 21 の点突然変異による 858 位のロイシンからアルギニンへの置換（L858R）が認められる。これらの一般的な活性化 Ex19del 及び L858R 変異により、一つには EGFR チロシンキナーゼの ATP への親和性が高くなり、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）の腫瘍に対する感受性が高くなる。しかし、この患者群に、EGFRm を標的とする既存の TKI のゲフィチニブ（イレッサ）、エルロチニブ（タルセバ）及びアファチニブ（ジオトリフ）を投与したとき、当初の奏効率（約 70%）は非常に良好で、効果があるにもかかわらず、9～14 カ月後に薬剤耐性を生じ、病勢が進行する（Jackman et al 2009, Mok et al 2009, Oxnard et al 2011, Maemondo et al 2010, Mitsudomi et al 2010, Rosell et al 2012）。

病勢が進行した患者から腫瘍組織を採取して分析することにより、EGFR-TKI 耐性に介在する多くのメカニズムが特定されている。現在知られている最も一般的な耐性メカニズムは、EGFR の「ゲートキーパー」アミノ酸である 790 位のスレオニンがメチオニンに置換される（T790M）二次的変異の獲得であり、病勢が進行した患者のうち最大 60%の患者の腫瘍細胞で検出されている（Kobayashi et al 2005, Pao et al 2005, Yu et al 2013）。EGFR に T790M 変異が起こると、立体障害（Sos et al 2010）及び ATP 親和性の増強（Yun et al 2008）の両方により、現在承認されている EGFR-TKI の阻害作用に対する耐性が獲得される（Pao et al 2005, Kobayashi et al 2005, Arcila et al 2011）。

活性化変異のない（以下、野生型）EGFR は複数の組織の上皮細胞に広く発現しており、増殖、再生、分化及び発生といった多くの生理的過程で重要な役割を果たしている（Yano et al 2003）。現在承認されている EGFR-TKI は、EGFRm 感受性変異型と同様に野生型 EGFR チロシンキナーゼも強く阻害し、患者においてこの薬理作用に関連する毒性も同時に引き起こすことが多い。EGFR はケラチノサイトの増殖、分化、遊走及び生存の重要な制御因子であり、EGFR が欠損すると、毛包の発生及び皮膚の構造に異常が生じる（Murillas et al 1995）。皮膚における野生型 EGFR の生理的役割と一致して、現在承認されている EGFR-TKI でよくみられる副作用には、様々な種類及び重症度の皮疹がある（Melosky and Hirsh 2014）。また、EGFR は消化管の上皮細胞にも発現しており、EGF の強い増殖作用が消化管の全ての部分で認められている（Vinter-Jensen 1999, Breider et al 1996, Reindel et al 1996）。消化管の生理機能に野生型 EGFR が関与して

いるため、EGFR-TKI 剤で最も高頻度にみられる有害事象の 1 つに下痢がある（Melosky and Hirsh 2014）。EGFR-TKI に伴うこれらの一般的な毒性により、患者の服薬遵守、生活の質及び治療成績が低下する可能性がある。そのため、野生型 EGFR チロシンキナーゼに対する作用が弱く、耐性が改善した EGFR-TKI が望まれている（Hirsh 2011）。

このことから、野生型 EGFR チロシンキナーゼと比較して T790M 変異チロシンキナーゼ及び EGFR-TKI 感受性変異チロシンキナーゼをより選択的に標的とするようにデザインされた新規 EGFR-TKI が開発されている。

AZD9291 （ N-(2-{2-dimethylaminoethyl-methylamino}-4-methoxy-5-{[4-(1-methylindol-3-yl) pyrimidin-2-yl]amino}phenyl)prop-2-enamide メシル酸塩）は、T790M 耐性・活性化変異標的型かつ野生型非標的型 EGFR チロシンキナーゼ不可逆的阻害作用を有する経口投与可能な新規 TKI であり、進行 NSCLC の経口治療薬として開発中である。本申請は、EGFR-TKI の使用中又は使用後に病勢進行した、EGFR T790M 変異陽性の切除不能な進行・再発の NSCLC 患者に対する経口治療薬として AZD9291 を使用することを目的としたものである。予定されている治療用量は 80 mg の 1 日 1 回投与である。

ヒトにおける曝露量を参照する際、その代表的な値として、AURA 試験の第 II 相延長コホートで日本人進行 NSCLC 患者に AZD9291 を 80 mg の用量で錠剤として投与したときの定常状態における C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$（それぞれ $C_{ss,max}$ 及び AUC_{ss}）の算術平均を用いた。当該試験で 32 例の日本人進行 NSCLC 患者から得られた AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の $C_{ss,max}$ はそれぞれ 0.78、0.08 及び 0.061 μM であり、AUC_{ss} はそれぞれ 15、1.6 及び 1.3 μM·h であった。なお、これらの値は血漿蛋白結合率が評価不能であったため（薬物動態試験 2.6.4.4.2 項参照）、いずれも総薬物濃度に基づき算出した値である。

非臨床開発において、マウス、ラット及びイヌを含む動物種で AZD9291 が代謝されると循環血中に 2 つの活性代謝物 AZ5104（AZ13575104）及び AZ7550（AZ13597550）が生成することが明らかになった。AZ5104 はインドール *N*-メチル基が除去されて生成し、AZ7550 は *N,N,N'*-トリメチルエチレンジアミン側鎖の脱アルキル化により生成した。その後、ヒトに AZD9291 を投与したときにも循環血中に両代謝物が存在することが確認された。

AZD9291 の非臨床薬理、薬物動態及び毒性の特性評価を行うために *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。AZ5104 及び AZ7550 代謝物の特性評価も本パッケージの一部として実施した。

AZD9291 及びその代謝物の薬理作用を多くの非臨床モデルで評価した。*In vitro* では、EGFRm、T790M 変異及び野生型 EGFR を発現する細胞株を用いて AZD9291 及びその代謝物の EGFR リン酸化及び EGFR 依存性細胞増殖に対する抑制作用を評価した。*In vivo* では、EGFRm 及び T790M 変異発現細胞株の皮下異種移植モデル及び誘導性トランスジェニック肺腫瘍モデル動物に、臨床的に意義のある血漿中濃度が得られる用量を経口投与したとき、有効性が認められ、EGFR 及び下流のシグナル伝達経路の阻害に伴って腫瘍が退縮した。標的外キナーゼに対する選択性を確認するため、広範な生化学キノームパネルを用いて本薬のスクリーニングを行った。また、*in vitro* において、種々の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素を含む広範な副次的薬理標的パネルにおける AZD9291 及びその代謝物の作用を検討した。

AZD9291 の心血管系、呼吸系、消化管系、視覚系及び中枢神経系に対する影響を、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験で評価した。重要な安全性薬理試験は、安全性薬理に関する ICH ガイドライン（ICH S7A, 2000, ICH S7B, 2005）に従うとともに、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。全ての安全性薬理試験では AZD9291 のフリー

体を使用したが、例外として、GLP 適用の hERG アッセイでは AZD9291 のメシル酸塩（臨床製剤での塩）を使用した。*In vivo* 試験では、臨床投与経路に合わせるため経口投与とした。

非臨床薬物動態試験は、薬理試験及び毒性試験で用いたものと同一の動物種及び系統を用いて実施した。組織分布は、アルビノラット及び有色ラットに加えて、異種移植腫瘍担癌マウスを用いて検討した。*In vitro* 試験では、単離ヒト組織並びに特定のヒト薬物代謝・輸送蛋白質を発現させた動物又は昆虫由来組織を用いて実施した。薬物相互作用の可能性については、適切に *in vitro* 試験で検討した。生体内分布試験で用いた製剤は、重要な毒性試験で用いたものと概ね同一であった。また、トキシコキネティクス評価は GLP に準拠して実施した。

AZD9291 の毒性は、ラット及びイヌを用いた最長 3 カ月間の反復経口投与毒性試験（1 カ月間反復投与毒性試験には回復性の評価を含む）、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（雄受胎能はラット 3 カ月間反復投与毒性試験で評価し、胚・胎児発生及び生後の生存／成長への影響をラットで検討）並びに *in vitro* 光毒性試験で評価した。*In vivo* 試験で経口投与を用いた理由は、これが臨床適用経路であるからである。ラット 3 カ月間反復投与毒性試験でみられた肺の所見については、探索的試験において更に電子顕微鏡検査で特性を明らかにした。含まれる可能性のある複数の不純物について、*in vitro* 遺伝毒性試験を追加実施した。

全ての重要な毒性試験は、GLP 基準を遵守して実施した。用量設定試験は GLP 適用試験ではないが、GLP 適用施設で実施した。全ての GLP 適用毒性試験において AZD9291 メシル酸塩を使用したが、例外として 1 カ月間反復投与毒性試験ではフリー体を使用した。大部分の GLP 非適用用量設定試験では、AZD9291 フリー体を使用した。いずれの試験においても、用量はフリー体当量として表示した。

毒性試験はラット及びイヌを用いて実施した。これらはいずれも正常組織における野生型 EGFR 阻害作用に関連した毒性リスクを評価するための動物種として妥当と考えられ、他の EGFR 阻害剤の毒性評価にも使用されている（Yano et al 2003）。加えて、AZD9291 の *in vitro* 代謝について行った検討では、ヒト肝細胞で確認された代謝物は、いずれもラット及び／又はイヌの肝細胞でも検出されている（薬物動態試験の概要文、2.6.4.5.1 項参照）。

ヒトにおける代謝物 AZ5104 及び AZ7550 血漿中曝露量はいずれも総循環血中薬物曝露量の 10%未満であったことから（AURA 試験の 80 mg の用量で得られたデータ）、ICHM3(R2)ガイドライン（2009）に基づくと、これらの代謝物についての特定の非臨床における特性検討は必要ないと考えられる。しかしながら、毒性試験を開始の時点でヒトにおけるこれらの代謝物の濃度は不明であり、いずれの代謝物も薬理活性を有することから、ラット及びイヌの 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験、ラットの胚・胎児発生に関する試験並びに GLP 適用の安全性薬理試験において AZ5104 及び AZ7550 への全身曝露量を測定した。AZ7550 の曝露量は全ての試験で定量できたが、分析上の問題により、AZ5104 の曝露量を定量できたのは、イヌ 1 カ月間反復投与毒性試験及びイヌの心血管系試験のみであった。AZ5104 を雌ラットに 1 カ月間経口投与して毒性を評価するため、創薬段階において探索的な試験を実施した。これらの試験は、予定している標的患者集団において、これらの代謝物に関する十分な安全性評価を提供するものと考えられる。

本毒性試験パッケージは、予定している患者集団での使用を適切にサポートするものと考えられ、進行癌患者を対象とした開発に関して ICHS9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価）に記載されたガイドラインに従ったものである。独自の単回投与毒性試験は実施しなかったが、急性経口投与毒性の情報には、ラット及びイヌで短期投与時の最大耐量（MTD）を求めた試験成績より得られた。AZD9291 の免疫毒性の有無についての評価は、反復投与毒性試験の一環として評価したパラメータにより十分に可能であると考えられたため、特異的な免疫毒性試験は実施しなかった。雌受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかったが、反復投与毒性試験における雌性

生殖器の病理組織学的検査により、雌受胎能への影響の有無についての代用評価を行った。AZD9291 は、臨床使用時の曝露量において、胚並びに生後初期の生存及び成長に対して明らかな有害作用を示した。これは本薬の薬理作用に基づいて予想されるものであったことから、更なる確認試験（ウサギの胚・胎児発生に関する試験並びにラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験）は、製品表示に情報を提供する上で必要ないと考え、実施しなかった。進行又は転移性 NSCLC の患者は予後不良で余命が短いと予想され、効果的な標準治療の選択肢がないことから、この適応症をサポートするためのがん原性試験は実施しなかった。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

既に述べたように、現在承認されている EGFR-TKI の主要な耐性獲得メカニズムである T790M 耐性変異を標的とする EGFR-TKI が求められている。このことから、アストラゼネカ（AZ）社では、EGFR T790M 変異に対し強力かつ選択的に作用する新規クラスの EGFR-TKI を創出することを目的として、創薬プログラムを開始した。更に、EGFRm 変異を有する腫瘍クローンに対しても作用を示すように、EGFRm チロシンキナーゼに対して、現在承認されている TKI のレベル以上の効力を有することが望ましいと考えられた。最後に、現在承認されている EGFR-TKI は、皮疹及び下痢といった野生型 EGFR チロシンキナーゼの阻害に関連するクラス毒性を示し、また、これらの用量制限毒性により T790M 変異に対する曝露量が制限される場合もあることから、創薬における第 3 の目標は野生型 EGFR チロシンキナーゼに対する作用を減弱させることとした。

AZ 社は、ゲートキーパー残基をメチオニンにすると、T790M 変異チロシンキナーゼに対する効力が増強し、野生型 EGFR チロシンキナーゼに対する作用は減弱するとの仮説に基づき、ゲートキーパー残基がスレオニンであるときとメチオニンであるときの特性の違いを利用して、T790M 変異チロシンキナーゼに選択的な骨格構造の探索を行った（Ward et al 2013）。酵素スクリーニングアッセイにおいて、AZ 社の化合物ライブラリーのスクリーニングを行ったところ、メチオニンゲートキーパーに作用する化合物が、野生型 EGFR チロシンキナーゼと比較して T790M 変異チロシンキナーゼにより強い作用を示した（Ward et al 2013）。しかし、これらの T790M 変異を標的とする化合物は、遺伝子組換え酵素アッセイでは有望な効力を示したものの、T790M 変異により ATP への親和性が高くなることが知られているセルベースアッセイで検討したところ、一般的に効力が大幅に減弱した。したがって、ATP への親和性の増強による可逆的阻害剤の効力減弱に対処するため、阻害剤を共有結合させる戦略をとった。Ward et al. 2013 で述べられているように、構造ベースのデザインにより、キナーゼドメインの 797 位のシステイン（Cys797）と共有結合を形成するような位置に反応性置換基（目的に合った反応基としてアクリルアミドベースの側鎖が選択された）を有する骨格構造を開発した。この初期のリード化合物創出後、ピリミジンベースの一連の化合物についてリード最適化を行い、最終的に、臨床試験に進めるのに適した候補薬物として AZD9291（AZ13552748；Finlay の文献では compound 8 と記載されている）を選択した（Finlay et al 2014）。

疾患に関連する EGFR の EGFRm 及び EGFR T790M 変異発現細胞株を用い、リン酸化 EGFR を評価項目とした作用機序試験において、AZD9291 は強力な *in vitro* 作用を示し、その見かけの IC_{50} 値の幾何平均は、表 1に要約するように 6～54 nM であった（Cross et al 2014）。更に、EGFRm チロシンキナーゼに対する *in vitro* 作用の強度は、既承認の EGFR-TKI と同程度であった

（Cross et al 2014）。また、当初設定した目標と合致して、AZD9291 の野生型 EGFR チロシンキナーゼに対する *in vitro* 阻害作用ははるかに弱く（見かけの IC_{50} 値の幾何平均は、480 nM～1.9 μM）、野生型 EGFR チロシンキナーゼと比較して変異型 EGFR チロシンキナーゼに選択的であることが示された。特記すべきこととして、野生型 EGFR アッセイにおける AZD9291 の作用は、既存の TKI より明らかに弱い（表 1；Cross et al 2014）。変異型 EGFR チロシンキナーゼに対する *in vitro* 作用を反映して、EGFRm 及び T790M 変異細胞株に対する *in vitro* での強い増殖抑制作用も認められた。*In vitro* 薬理データを総合すると（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1 項参照）、AZD9291 は EGFRm チロシンキナーゼ及び T790M 変異チロシンキナーゼのいずれに対しても強い作用を示し、一方、野生型 EGFR チロシンキナーゼに対する作用は弱いことが裏付けられた。

表 1　　*In vitro* における EGFR リン酸化に対する AZD9291 の作用

化合物	H1975 (L858R/T790M)	PC-9 VanR (ex19del/T790M)	PC-9 (ex19del)	H3255 (L858R)	H1650 (ex19del)	LoVo (WT)	A431 (WT)	NCI-H2073 (WT)
AZD9291	15 (10, 20)	6 (3, 13)	17 (13, 22)	60, 49	14, 12	480 (320, 720)	2376, 1193	1865 (872, 3988)
Dacomitinib	40 (24, 65)	6 (2, 17)	0.7 (0.5, 1)	1.2, 1.3	0.04, 0.06	12 (8, 17)	51, 22	26 (7, 99)
アファチニブ	22 (15, 31)	3 (2, 6)	0.6 (0.5, 0.8)	1, 0.8	0.6, 3	15 (10, 24)	27, 40	25 (5, 129)
ゲフィチニブ	3102 (1603, 6001)	741 (484, 1136)	7 (5, 11)	11, 12	16, 19	59 (42, 82)	60, 88	61 (34, 110)
エルロチニブ	6073 (3634, 10150)	1262 (588, 2711)	6 (4, 7)	8, 11	5, 8	91 (53, 156)	244, 260	108 (52, 223)

WT：野生型
従来の TKI と比較して、AZD9291 は、感受性変異（PC-9、H3255、H1650）又は T790M 耐性変異（H1975、PC-9VanR）を有する細胞株における EGFR リン酸化を阻害する一方、野生型 EGFR リン酸化（LOVO、A431、H2073）に対する作用はそれより弱かった。化合物添加後 2 時間の細胞抽出物におけるリン酸化 EGFR を ELISA で定量し、見かけの IC_{50} 値の幾何平均（nM）を 2 回以上の独立した実験から算出した（n>3 の場合は 95%信頼区間を示し、n=2 の場合は個々の IC_{50} 値を記載した）。

AZD9291 は、EGFR チロシンキナーゼドメインの Cys797 と共有結合する反応性アクリルアミド置換基を有するようにデザインされている。AZD9291 が Cys797 残基に不可逆的に結合することは、質量分析試験により確認されている（Cross et al 2014）。更に、*in vitro* 試験において、見かけの IC_{50} 値で示される EGFR チロシンキナーゼに対する阻害作用は、化合物のインキュベーション時間とともに増強し、不可逆的な作用様式と一致した（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.5 項参照）。見かけの IC_{50} 値で示される効力は阻害剤の曝露時間に依存することから、IC_{50} 値により効力を解釈及び比較する場合には曝露時間を考慮する必要があり、そのような効力の値を用いて *in vivo* 作用を解釈することは難しい。EGFR の不可逆的阻害剤の効力は、受容体への可逆的な親和性（K_i）及びそれに続く共有結合による不活性化速度（K_{inact}）の両方により決定されるが（Schwartz et al 2014）、細胞を用いてこれらの係数を測定するのは非常に困難であるため、効力のサロゲート・マーカーとして見かけの IC_{50} 値を使用する必要がある。更に、K_i 値及び K_{inact} 値

は生化学アッセイで測定可能であるが、EGFR チロシンキナーゼに関しては非常に困難であることが判明しており（Schwartz et al 2014）、AZ 社では確実な値が得られていない。

EGFR 変異発現細胞株を用いた *in vivo* モデルにおいても AZD9291 の評価を行った（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項参照）。EGFRm（PC9 及び H3255）又は T790M 変異（H1975 及び PC9VanR）を有する異種移植モデルに AZD9291 を経口投与したところ、*in vitro* 薬理試験及び作用機序試験と一致して、5 mg/kg/日の低用量で腫瘍退縮が認められた。更にこれらのモデルでは、5 及び 25 mg/kg/日の用量において、腫瘍の完全かつ持続的な消失が認められた（Cross et al 2014）。これらの *in vivo* 試験により、EGFRm 又は EGFRm/T790M 耐性変異を有する腫瘍に対して AZD9291 は強い有効性を示すという前提が裏付けられた。また、より疾患に関連する非臨床モデルである、EGFR 変異腫瘍を肺に誘導し成長させたトランスジェニック肺腫瘍マウスモデルにおいて、5 mg/kg/日の用量で顕著な腫瘍退縮が認められ、上記前提が更に裏付けられた（Cross et al 2014）。

In vivo EGFRm 及び T790M 変異腫瘍異種移植モデルに AZD9291 を投与したときに誘導される腫瘍退縮レベル、リン酸化 EGFR レベル及び AKT 等の下流シグナル伝達分子レベルには良好な用量関連性が認められ、これらの用量依存的な低下は投与後 6 時間に最大となった（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2.4 項参照；Cross et al 2014）。このデータにより、AZD9291 の EGFR チロシンキナーゼ阻害作用が抗腫瘍作用を発揮していることが更に裏付けられた。非臨床げっ歯類モデルにおいて、AZD9291 の薬物動態における半減期は約 3 時間と比較的短かったが（薬物動態試験の概要文 2.6.4.3.1 項参照）、リン酸化 EGFR レベルは 30 時間後の時点においても著しく低いままであり、AZD9291 で予想される不可逆的な作用様式に一致していた。しかし、下流シグナル伝達分子に対する阻害は、リン酸化 EGFR と同様に 6 時間後に最大阻害を示したものの、その阻害はリン酸化 EGFR よりも一過性で、より速やかにベースラインレベルに戻った。これらの結果から、AZD9291 の作用様式は不可逆的ではあるものの、EGFR 及び下流シグナル伝達の最大抑制、並びにその結果得られる有効性を維持するには、持続的な曝露が必要であることが示唆された。

EGFR 変異腫瘍を有する患者にとって、脳転移の発生が大きな問題となっている。そのため、AZD9291 が脳内腫瘍を標的とする可能性を非臨床で検討した。*In vivo* で頭蓋内 PC-9 EGFRm 腫瘍モデルに AZD9291 を投与したところ、有意な腫瘍退縮が認められ（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2.6 項参照）、脳及び腫瘍コンパートメント内の薬物動態学的分布は類似していたことから（薬物動態試験の概要文 2.6.4.4.1.1 項参照）、脳転移腫瘍に対する AZD9291 の作用を更に評価する妥当性が示唆された。

非臨床開発において、げっ歯類モデルで AZD9291 が代謝されると循環血中に少なくとも 2 つの活性代謝物 AZ5104 及び AZ7550 が生成されることが明らかになった（薬物動態試験の概要文 2.6.4.3.2 及び 2.6.4.3.3 項参照）。これらの代謝物は AZD9291 に構造的に類似しており、共有結合性反応基を保持していることから、これらの薬効薬理作用を親化合物と比較することが重要と考えられた。*In vitro* でのリン酸化 EGFR 及び増殖アッセイにおいて、AZ7550 は AZD9291 に極めて類似した薬理作用を示した（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.2 及び 2.6.2.2.1.6 項参照）。一方、AZ5104 は質的には AZD9291 に類似したプロファイルを示したが、量的には明らかな違いが認められた。AZ5104 は、変異型 EGFR のリン酸化に対して、AZD9291 よりも強い阻害作用を示し、見かけの平均 IC_{50} 値は、例えば H1975（L858R/T790M）細胞株でそれぞれ 2 及び 15 nM、PC-9（Ex19del EGFRm）細胞株でそれぞれ 2 及び 17 nM であった（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.2 項参照）。同様に、AZ5104 は野生型 EGFR リン酸化に対して AZD9291 よりも強い作用を示した（見かけの平均 IC_{50} 値の例は LOVO でそれぞれ 33 及び 480 nM）。したがって、野生型 EGFR（LOVO）と比較したときの T790M 変異（H1975）への選択性は、AZ5104 の方が AZD9291 より

も低く、それぞれ約 16 倍及び 30 倍であった。更に、*in vivo* においては、H1975 及び PC-9 異種移植モデルに AZ5104 を親化合物と同じ用量で単独経口投与したとき、AZD9291 と同程度の腫瘍退縮が認められた（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2.3 項参照）。この薬理学的分析で AZ5104 は変異型チロシンキナーゼ及び野生型 EGFR チロシンキナーゼに対してより強力な阻害作用を示したことから、非臨床及び臨床において、AZD9291 でみられる有効性及び毒性に寄与する可能性が示された（ただし、どの程度寄与するかは明らかになっていない）。

AZD9291 並びにその 2 つの代謝物 AZ5104 及び AZ7550 のキノーム選択性を、市販の 265 キナーゼパネルを用いて広範に検討した。AZD9291 は標的外キナーゼに対する作用が弱く、1 μM で 60%を超える阻害がみられた標的外キナーゼは 18 種類のみであった（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.1 項参照）。代謝物も質的に類似したキナーゼ選択性プロファイルを示した。AZ5104 が阻害作用を示したキナーゼは 23 種類であり、AZD9291 の 18 種類と比較して多少低い選択性プロファイルを示したが、そのうち 16 種類は AZD9291 でも阻害作用が認められた。一方、AZ7550 が明らかな作用を示したキナーゼは 6 種類のみであり、それら全ては AZD9291 又は AZ5104 でも阻害作用が認められた。続いて、これらの着目すべき標的外キナーゼに対する AZD9291 の IC_{50} 値を測定したところ、明らかな作用（<500 nM）を示したキナーゼは、ACK1、ALK、BLK、BRK、ErbB2、ErbB4、LRRK2、MLK1、MNK2 及び TEC 等のごくわずかであったが、いずれも主標的の変異型 EGFR チロシンキナーゼに対する作用を超えるものではなかった。EGFR の Cys797 に類似した構造を有するため AZD9291 が共有結合できると考えられるヒトキノーム 9 種類のうち、AZD9291 が明らかな阻害作用を示したのは ErbB2、ErbB4、TEC 及び BLK であった。副次的キナーゼ標的分子のいずれについても、変異型 EGFR チロシンキナーゼに効果を及ぼすと考えられる情報はないことから、AZD9291 の効果は全て変異型 EGFR チロシンキナーゼに対する阻害作用を介したものであるという根拠が示された。したがって、酵素プロファイリングデータから、AZD9291 及びその代謝物は選択的なキナーゼ阻害作用プロファイルを示し、これらの化合物の変異型 EGFR チロシンキナーゼに対する効果に関与すると考えられる明らかな標的外キナーゼはなかった。

酵素キナーゼプロファイリングにより、AZD9291 及び代謝物は、関連する EGFR ファミリーメンバーの HER2（ErbB2）を標的とする可能性が示された。この結果について更に検討するため、一連の HER2 リン酸化セルベースアッセイでこれらの化合物を評価した。AZD9291 はリン酸化 HER2 モデル全体にわたって作用を示した（見かけの平均 IC_{50} 値は 90～119 nM）（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.4 項参照）。他の薬理作用と一致して、AZ5104 はこれらのアッセイのリン酸化 HER2 に対して 5～7 倍強い作用を示した（見かけの平均 IC_{50} 値は 13～18 nM）（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.4 項参照）。AZ7550 の薬理作用は AZD9291 に類似しており、生化学プロファイリングによりその作用は弱いことが示されたため、AZ7550 の細胞 HER2 に対する検討は行わなかった。したがって、*in vitro* データを総合すると、AZD9291 及び AZ5104 は *in vivo* で HER2 を標的とする可能性が示されたが、臨床曝露量におけるその阻害の程度は不明である。

IGF1R 及びインスリン受容体（InsR）キナーゼはいずれも、それぞれのキナーゼドメインに T790M 変異と類似したメチオニンゲートキーパー残基を有しており、そのような IGF1R/InsR キナーゼに作用する薬剤の用量制限毒性として高血糖が挙げられる（Yee 2012）。例えば、T790M 変異を標的とする別の EGFR-TKI の CO-1686 は、おそらく IGF1R への作用により臨床で高血糖を引き起こすことが報告されている（Wakelee et al 2014）。したがって、T790M 変異を標的とする阻害剤がこれらの標的外キナーゼに作用することにより生じると考えられる用量制限毒性の高血糖を発現する可能性を最小限にするように、これらのキナーゼに対する選択性を上げることが重要と考えられた。AZD9291 はこれらの酵素への作用が最小限となるようにデザインされている（Finlay et al 2014）。このデザイン目標と合致して、AZD9291 は、IGF1R 及び InsR キナーゼ、

並びに細胞内 IGF1R リン酸化のいずれに対しても作用が弱かった（>1 μM）（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1.3 項参照）。AZ7550 も同様にこれらの酵素に作用しないことが示された。AZ5104 は、酵素レベルでは IGF1R 及び InsR キナーゼへの作用がより強かったものの（それぞれ 238 及び 110 nM）、それにより細胞 IGF1R キナーゼへの作用が強くなることはなかった（>1 μM）。これらのデータから、AZD9291 及び代謝物は IGF1R 及び InsR キナーゼに対して強い作用を及ぼさないことが示された。更に、反復投与毒性試験において、AZD9291 及び AZ5104 を経口投与したとき、血漿中インスリン及び血糖値に対する明らかな作用は認められなかった（毒性試験の概要文 2.6.6.3 項参照）。

2.4.2.2　副次的薬理試験

AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 について、様々な受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素を網羅する広範な副次的薬理標的分子パネルを用いて、*in vitro* 放射性リガンド結合試験、酵素活性及び機能試験を実施した（AZD9291 は 181 種類、代謝物は 189 種類の標的分子についてスクリーニングを行った；薬理試験の概要文 2.6.2.3 項参照）。AZD9291 は 88 種類の標的分子（野生型 EGFR チロシンキナーゼを含む）に対して IC_{50} 又は K_i 値を算出するのに十分な活性を示し、そのうち 21 種類では IC_{50} 又は K_i 値が主標的（変異型 EGFR チロシンキナーゼ）に対する IC_{50} 値の 100 倍以内であった。AZ5104 及び AZ7550 は、それぞれ 82 種類及び 90 種類の標的分子に対して IC_{50} 又は K_i 値を算出するのに十分な活性を示した。代謝物の副次的薬理プロファイルは質的に AZD9291 に類似していた。

血漿蛋白結合率のデータがないため、臨床において AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の血漿中フリー体がこれらの副次的薬理標的分子にどの程度影響を及ぼすかを推測することは難しい。しかし、AZD9291 及びその 2 つの代謝物の副次的薬理プロファイルについては、非臨床毒性及び安全性薬理試験における所見、並びに NSCLC 患者を対象とした進行中の試験における臨床での忍容性及び曝露量データから十分に精査されている。反復投与毒性試験でみられた主な用量制限毒性は、野生型 EGFR チロシンキナーゼへの作用に一致するものである（毒性試験の概要文、2.6.6.10 項参照）。更に、AZD9291 の臨床での忍容性はこれまでのところ良好であり、主な有害事象は野生型 EGFR チロシンキナーゼへの作用に一致するものである（AURA 試験で 20～240 mg の用量を投与した患者 253 例の評価に基づく。データカットオフ日は 2014 年 12 月 2 日；臨床的安全性の概要 2.7.4 参照）。

2.4.2.3　安全性薬理試験

AZD9291 の心血管系、呼吸系、消化管系、視覚系及び中枢神経系に対する影響を、包括的な一連の安全性薬理試験で評価した。実施した安全性薬理試験の概要は、安全性薬理試験概要表に用量とともに示す（薬理試験概要表 2.6.3.4 項参照）。これらの試験における主要所見を以下に記載する。ラット及びイヌでは代謝物 AZ5104 及び AZ7550 が生成するため、*in vivo* 試験ではこれらの代謝物の評価も含まれている。

GLP 適用の *in vivo* 安全性薬理試験で薬物動態用試料を採取し、測定したところ、ラット及びイヌで得られる AZD9291 及び AZ7550 の総血漿中濃度は、80 mg の用量を投与した患者での定常状態における総 C_{max} の算術平均より高いことが確認された（薬理試験の概要文、2.6.2.6.3 項参照）。分析上の問題により（薬物動態試験の概要文 2.6.4.2.1.1 項参照）、代謝物 AZ5104 の定量は、イ

ヌ心血管系試験においてのみ実施され、そのときの総 C_{max} は、80 mg の用量を投与した患者での総 C_{max} よりわずかに低かった（約 55%）。

AZD9291 は hERG チャネルを阻害し、その IC_{50} 値は 0.69 μM であった。AZ5104 及び AZ7550 も hERG チャネルを阻害し、その IC_{50} 値はそれぞれ 17.48 μM 及び>33 μM であった（代謝物の評価は GLP 非適用）。イヌテレメトリー試験において、QTcR 間隔の延長がみられたが、延長の程度が小さく、一過性であったことから、これらの変化の生物学的意義は小さいと考えられる。試験最高用量（60 mg/kg）における AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の総 C_{max} は、ヒトでの 80 mg の用量における総 C_{max} のそれぞれ約 3 倍、0.6 倍及び 4 倍であった。イヌ 1 カ月間試験（AZD9291 の総血漿中濃度が患者に 80 mg の用量を投与したときと同程度になる 20 mg/kg/日までの用量の反復投与）又はイヌ 3 カ月間試験（10 mg/kg/日までの用量の反復投与）において、QTcV 間隔に明らかな影響はみられなかった（毒性試験の概要文、2.6.6.3.2.2 項及び 3.2.3 項参照）。麻酔モルモットモデルの非常に高い曝露量において、QTcB 間隔の延長が認められた（40 mg/kg 静脈内注入、最高総血漿中濃度は 22.87 μM；ヒト C_{max} の 29 倍）。この変化の程度は小さく、低用量（5 mg/kg 静脈内注入、最高総血漿中濃度は 4.76 μM；ヒト総 C_{max} の 6 倍）では影響がみられなかったことから、本所見の臨床的意義は小さいと考えられる。

GLP 非適用の探索的ラットテレメトリー試験において、用量依存的な血圧の上昇が認められた。当試験では曝露量を測定しなかったが、これらの変化が認められた用量では、AZD9291 の総 C_{max}（他のラット試験からの外挿に基づくと約 0.7 μM）が患者に 80 mg の用量を投与したときの総 C_{max}（0.78 μM）と同程度になると推測される。GLP 適用のイヌテレメトリー試験及びイヌ 1 カ月間試験では、血圧への影響はみられなかった（イヌテレメトリー試験の高用量の 60 mg/kg における AZD9291 の総 C_{max} は 2.51 μM）。

他の心血管系パラメータへの影響はみられなかった。

AZD9291 は、患者に 80 mg を投与したときの総 C_{max}（0.78 μM）より低い血漿中濃度（≥0.226 μM）において、ラットの消化管輸送を抑制した。その機序は不明であるが、他の EGFR 阻害剤でもラットでの胃排出能低下が報告されている（Erlotinib (Tradename Tarceva) 2004, Afatinib (Tradename Gilotrif) 2013）。

ラット単回投与安全性薬理試験において、AZD9291 による呼吸系、視覚系及び中枢神経系への明らかな影響はみられなかった。

以上、AZD9291 は 予定適応症に対して許容可能な安全性薬理プロファイルを有することが示された。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1 まとめ

AZD9291 の開発を目的として非臨床薬物動態試験を実施した。これらの試験には、薬理試験、一般毒性試験及び生殖毒性試験で用いたものと同一の動物種（マウス、ラット及びイヌ）の系統を可能な限り用いた。組織内分布はアルビノラット及び有色ラットを用いて検討した。*In vitro* 試験は、単離ヒト組織並びに特定のヒト薬物代謝・輸送蛋白質を発現させた動物又は昆虫由来組織を用いて実施した。これらの試験は、必要に応じて GLP に準拠して実施した（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項 表 1、薬物動態試験概要表 2.6.5.1 項：一覧表を参照）。代謝物の検出は、健康被

験者に AZD9291 を単回投与して得た血漿（試験 D5160C00011）及び患者に投与したときの定常状態で得た血漿（AURA 試験）を用いて行った。本概括評価に記載したヒト曝露量は、日本人進行 NSCLC 患者 32 例に AZD9291 の錠剤を 80 mg の用量で投与したときの定常状態における C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$（それぞれ $C_{ss,max}$ 及び AUC_{ss}）の算術平均を引用した［AURA 試験の第 II 相延長コホート］。

2.4.3.2 分析法

非臨床薬物動態試験及び毒性試験における AZD9291 並びに *N*-脱メチル代謝物 AZ5104 及び AZ7550 を HPLC-MS/MS で測定した。トキシコキネティクスにおける血漿中濃度測定は、バリデートされた分析法を用いて実施した。1 カ月間の反復投与毒性試験及び安全性薬理試験における最初の血漿中濃度の測定は、AZD9291 及びその代謝物の長期凍結保存時の安定性が確認された保存期間を過ぎていた試料で実施された（薬物動態試験の概要文 2.6.4.2 項を参照）。ラット及びイヌ血漿中濃度の過小評価は、最大で AZD9291 が約-23%、AZ5104 が-48%、AZ7550 が-21%であった。しかし、安全域は、AZD9291 及びその代謝物の曝露量を過小評価していなかったとしても測定値以上と算出される。3 カ月間の反復投与毒性試験及びラットの胚・胎児発生に関する試験から得られた試料の分析は、安定性が保証されている期間内に実施した。残余の血漿試料を用いて測定法の再現性（incurred sample reanalysis：ISR）を確認したところ、AZD9291 及び AZ7550 については全ての毒性試験において再現性が得られたが、AZ5104 はイヌ 1 カ月間毒性試験を除き再現性は得られなかった。AZ5104 の分析法についてはさらに検討を行ったが、代替となる適切な AZ5104 分析法は確立されていない。AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の臨床における血漿中濃度測定法については、ISR で再現性が得られた。

2.4.3.3 吸収

非臨床動物種において、AZD9291 の吸収は中程度以上であり、バイオアベイラビリティはラットで 24～37%、イヌで 115%であった。曝露量はほぼ用量に比例して増加した。毒性試験において高用量を投与したときの吸収は長時間にわたり、t_{max} は概ね 2～4 時間であった。

Caco-2 細胞を用いて測定した AZD9291 の透過性は中等度であり、また、空腹時における人工腸液（fasted state simulated intestinal fluid、pH 6.5）中での溶解度は 5 mg/mL を超えており、吸収性が良好であることと一致する。

AZD9291 の分布容積はラット（12～13 L/kg）及びイヌ（18 L/kg）で中程度以上であり、本薬が脂溶性かつ塩基性であるという物理的化学的特性を有することと一致し、また、ラット QWBA 試験で多くの組織中濃度が血液中濃度より高値であった結果とも一致している。血漿クリアランスは、ラットの雄で 2.57 L/h/kg 及び雌で 1.78 L/h/kg であり、性差がみられた。イヌのクリアランスは 1.28 L/h/kg であった。消失半減期はラットで 3～9 時間、イヌでは 10～13 時間であり、ヒトにおける消失半減期（第 I 相試験用製剤を 80 mg の用量で投与したときに算出された半減期は 48.6 時間）［AURA 試験の第 I 相パート］）に比べいずれも短かった。

ラットにおける AZD9291 の曝露量（C_{max} 及び AUC）は、雌が最大で雄の約 2～3 倍の値を示し、クリアランスに性差が認められたことと一致した。また、曝露量は雌雄ともにほぼ用量に比例して増加した。雌雄ラットに 4～40 mg/kg/日の用量で 1 カ月間反復投与したときの曝露量はほぼ一定であり、著しい変動はみられなかった。

イヌの 1 カ月間反復投与毒性試験では、AZD9291 の曝露量は雌雄で同程度であり、2～20 mg/kg の用量でほぼ用量に比例して増加した。2 週間投与後では、血漿中濃度に約 2 倍の蓄積が認められ、4 週間投与後まで維持された。このことはイヌにおける半減期（約 10 時間）と一致していた。

AZD9291 を液剤、固形剤（カプセル剤）及び 2 種類のプロトタイプの錠剤（いずれも臨床試験では使用されていない）として 20 mg の用量で雄イヌに経口投与したときの曝露量を検討した結果、AZD9291 の C_{max} 及び AUC は、4 剤間でほぼ同程度であった。

2.4.3.4 曝露量の動物種間比較

患者に AZD9291 を 1 日量として 80 mg の用量で投与したときの、得られた定常状態における AZD9291 の平均血漿中曝露量（C_{max} 及び AUC）は、ラット及びイヌにおける 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験における MTD で得られた値とほぼ同程度であった（表 2参照）。これらの毒性試験では、高用量で用量制限が必要な毒性が認められ、AZD9291 による曝露量に限界はなかった。動物の忍容性が限界となる血漿中濃度が、患者における治療用量での血漿中濃度と同程度か又はそれを下回る値となることは、がん治療薬では珍しくない（Collins et al 1990）。

表 2　　動物における 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験での最大耐量並びにヒトに 80 mg の用量を投与したときの定常状態における AZD9291 の平均曝露量

パラメータ	ラット				イヌ		ヒト[e]
試験期間	1 カ月[a]		3 カ月[b]		1 カ月[c]	3 カ月[d]	サイクル 2 第 1 日
性別	雄	雌	雄	雌	雌雄	雌雄	男女
用量 (mg/kg)	40	20	20	20	12	6	1.3
C_{max} (nM)	546	615	408	1020	1060	425	780
$AUC_{(0-24)}$ (nM·h)	9530	9980	5880	16200	12200	5420	15000

a　1 カ月間毒性試験（試験 3416AR）の 28 日目
b　3 カ月間毒性試験（試験 526248）の 91 日目
c　1 カ月間毒性試験（試験 1351AD）の 28 日目の雄/雌の平均値
d　3 カ月間毒性試験（試験 526253）の 91 日目の雄/雌の平均値
e　日本人進行 NSCLC 患者 32 例に AZD9291 の錠剤を 80 mg の用量で投与したときの $C_{ss,max}$ 及び AUC_{ss} の算術平均［AURA 試験の第 II 相延長コホート］。

2.4.3.5 分布

AZD9291 はヒト血漿中で不安定であり、非特異的結合を示すことから、血漿蛋白結合率は測定されていない。演算アルゴリズムによると、ヒト蛋白結合率は AZD9291 で 99%、DMPK 試験、毒性試験及び臨床試験で測定された 2 種類の血漿中代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の蛋白結合率は 98%と推定された。AZ5104 の実測定においても 100 μM の濃度における蛋白結合率は 98%であった。薬物－薬物間相互作用（DDI）が生じる可能性についての評価には、慎重を期して蛋白結合率を 90%（非結合率 10%）として、ヒト血漿中 AZD9291 濃度を算出した（2.4.3.9項参照）。

AZD9291 が血漿中で不安定であったことから、AZD9291 の血液/血漿分配率は測定できなかった。しかし、ラット及びイヌに[^{14}C]-AZD9291 を静脈内投与及び経口投与したときの血漿中総放

射能濃度に対する血液中総放射能濃度の比は、ラットで 1.5～2.7、イヌで約 1 であった。このことから、AZD9291 及びその代謝物は血球に分布することが示唆された。

AZD9291 は、EGFR のシステイン残基と結合する不可逆的阻害剤として、ナノモル濃度で効力を発揮するように設計されている。AZD9291 はラット及びヒト血漿蛋白、ヒト血清アルブミン並びにラット及びヒト肝細胞中蛋白質と共有結合することが確認されているため、理論的には特異体質性肝毒性及び免疫介在性毒性のリスクを有する。しかし、ラット及びイヌを用いた毒性試験では、関連する肝臓及び免疫関連シグナルは確認されなかった（毒性試験の概要文 2.6.6.9.3 項参照）。

ラットにおいて AZD9291 及びその代謝物は特定の有色組織（ブドウ膜及び網膜色素上皮）のメラニン色素に結合することが示された。メラニンとの結合は AZD9291 のような脂溶性で塩基性の薬物で一般的に認められる事象であり（Ings 1984）、必ずしも眼毒性を惹起するとは限らないとの報告がある（Leblanc et al 1998及びICH S10；薬物動態試験の概要文 2.6.4.9 項参照）。AZD9291 及びその代謝物は蛋白質と一部共有結合し、緩徐に消失することと一致して、有色ラットではほとんどの組織における放射能の消失半減期は 100 時間以上であり、測定したラット組織の 42%では、投与後 60 日においても放射能の定量が可能であった。また、ラットにおける放射能の消失半減期と同様に、イヌにおける血漿中放射能の消失半減期も長く、179 時間と算出された。この値は未変化体 AZD9291 の半減期（約 13 時間）に比べ著しく長かった。

AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 は、MDCKII 細胞系において、いずれも P-糖蛋白質（P-gp）及び breast cancer resistance protein（BCRP）の基質であることが示されたが、肝細胞取り込みでは、organic aniontransporting polypeptides（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示されている。非臨床動物種における AZD9291 のバイオアベイラビリティは中程度以上であり、曝露量はほぼ用量に比例して増加することから、全身曝露量は P-gp 阻害剤又は BCRP 阻害剤との併用投与により著しい影響は受けないと考えられる。

ラットを用いた組織分布試験において、AZD9291 及びその代謝物は全身の組織に広く分布し、組織中濃度は血中濃度よりも概ね高値であった。アルビノラットにおける分布は雌雄で同程度であったが、血中放射能濃度は概ね雌の方が雄よりも高く、前述した雌ラットにおける AZD9291 曝露量の結果と一致した。AZD9291 及びその代謝物はラットの中枢神経系に移行し、また、マウス脳及び腫瘍内濃度は血漿中濃度よりも高値であった。AZD9291 及びその血中代謝物は、それらの中枢神経系への移行を制限すると考えられる P-gp 及び BCRP の基質であるため、げっ歯類で観察された AZD9291 及びその代謝物の脳曝露量は、AZD9291 及びその代謝物の透過性がこれらのトランスポーターによる排出作用を十分に上回ることを示すものである。このことから、AZD9291 及びその血中代謝物は、ヒトにおいても中枢神経系に移行すると考えられる。

2.4.3.6 代謝

AZD9291 の代謝は、*in vitro* でマウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞並びに各遺伝子組み換えチトクローム P450（CYP）分子種で検討した。*In vivo* での非臨床代謝試験は実施していないが、薬物動態試験、毒性試験及び臨床試験において、2 種類の血漿中代謝物（AZ5104 及び AZ7550）が測定されている。

AZD9291 はヒト肝細胞とインキュベーションしたときには比較的安定であり、確認された代謝物はいずれも低濃度か又はごく微量であった（表 3参照）。血漿中の脱メチル化代謝物 AZ5104 及び AZ7550（図 1参照）がヒト肝細胞中で同定されたが（それぞれ M6 及び M3）、それ以外にも複数の酸化体、脱アルキル体及び抱合体が代謝物として同定あるいは推定された。代謝物

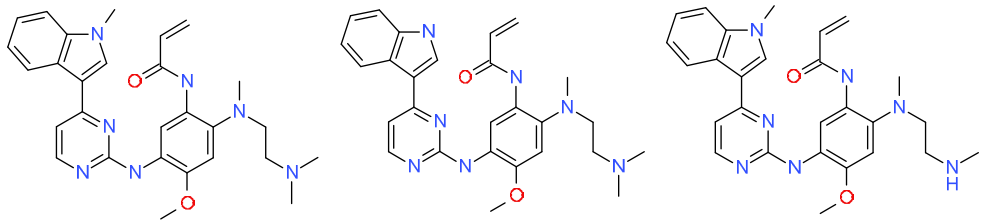
（M8 及び M10）は、AZD9291 のアクリルアミドとの抱合体である。ヒト肝細胞で同定された代謝物は、いずれもラット又はイヌ肝細胞で認められた。

表 3　　マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞とともに AZD9291 を 5 μM の濃度で 60 分間インキュベーションしたときに生成した代謝物の概要（ヒト代謝物の動物種間比較のみを示す）

ピーク番号	推定される代謝反応	UV 検出（320～330 nm）によるクロマトグラム上のピーク面積の総和に対する割合			
		マウス	ラット	イヌ	ヒト
M1	酸化（+O）	<1%	<1%	1～10%	<1%
M2	脱アルキル化（$-C_4H_9N$）	ND	<1%	<1%	<1%
M3（AZ7550）	脱メチル化（$-CH_2$）	1～10%	1～10%	1～10%	1～10%
M4	酸化（+O）	1～10%	1～10%	1～10%	1～10%
M6（AZ5104）	脱メチル化（$-CH_2$）	<1%	<1%	<1%	<1%
M8	システイングリシン抱合	ND	<1%	ND	<1%
M10	グルタチオン抱合	1～10%	>10%	1～10%	<1%

ND　質量分析によって検出されず

図 1　　AZD9291 並びに血漿中代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の構造



AZD9291　　AZ5104　　AZ7550

ヒト肝細胞における AZD9291 の代謝速度に対する各種 CYP 阻害剤及びフラビンモノオキシゲナーゼ（FMO）阻害剤の影響について検討したが、阻害剤非存在下での消失率が低く、これら阻害剤による影響を評価するには至らなかった。しかし、これらのインキュベーション反応液中の代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の生成速度に対する影響については評価することができ、これら代謝物の生成には CYP（主に CYP3A4/5）が関与することが示された。この結果は、各遺伝子組み換えヒト CYP 発現系を用いた試験において、CYP による AZD9291 の代謝には主に CYP3A4/5 が関与し、他の CYP 分子種も程度は小さいものの関与することが示唆されたことと一致した。

各 CYP 分子種を用いた試験において、AZ5104 及び AZ7550 の代謝にも主に CYP3A4/5 が関与していることが示唆された。これらの結果から、臨床において、強力な CYP3A4/5 阻害剤との併用投与により、AZD9291 及びその代謝物の曝露量が影響を受けることが考えられる。しかし、AZD9291 のクリアランスに関与すると考えられる他の代謝経路（抱合など）も確認されており、また、別の代謝酵素や化学的付加反応も AZD9291 のクリアランスに関与していると考えられることから、CYP3A4/5 阻害剤による影響は小さいと推察される。

ヒトにおける代謝は、患者から得た定常状態における血漿及び健康被験者に[^{14}C]-AZD9291 を投与して得た血漿を用いて検討した。これらの試験において、血漿抽出物で最も多く存在したのは AZ5104 及び AZ7550 であり、それぞれ総 AZD9291 関連物質の約 8%及び約 6%を占めた。この結果は、臨床試験においてバリデートされた分析法で測定した結果と一致した（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。血漿中に総 AZD9291 関連物質の 10%を超える代謝物は見られなかった。健康被験者に[^{14}C]-AZD9291 を 20mg の用量で単回投与して得たヒトの糞便中には 8 種の代謝物が検出され、尿中には 5 種の代謝物が検出された。これらの代謝物のうち、AZ5104 と AZ7550 が排泄物中に最も多く存在し、それぞれ投与量の約 6.6%及び約 2.7%を占めた。未変化体 AZD9291 は糞便及び尿中に排泄され、それぞれ投与量の約 1.2%及び約 0.71%を占めた。

全体として、投与後 7 日までの放射能の排泄率は投与量の 47.5%であったのに対し、検出した代謝物及び AZD9291 は 18.8%であった。排泄物中の残りの 28.7%の放射能は、主に AZD9291 関連物質として蛋白様物質と不可逆的な結合を起こし、結果的に抽出されなかったものと考えられる。また、クロマトグラムでは検出されなかった代謝物が僅かながら存在し、その量は各々投与量の 1%未満と思われる。

毒性試験及び臨床試験において AZ5104 及び AZ7550 の曝露量を測定した結果、ラットの 1 カ月間探索毒性試験において、AZ5104 を雌ラットに経口投与し測定した結果を併せて表 4に示す。これらのデータから、非臨床動物の 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験におけるこれら代謝物の曝露量は、ヒトにおける 80 mg の用量での曝露量と同程度か又はそれを下回ることが示唆された。1 カ月間探索毒性試験で雌ラットに AZ5104 を経口投与したときの平均 C_{max} 及び AUC は、ヒトにおける値と比較して、それぞれ約 5 倍及び 3 倍高かった。

表 4　AZD9291 の 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で検討した最大耐量並びにラットに AZ5104 を投与した 1 カ月間探索毒性試験における AZ5104 及び AZ7550 の平均曝露量とヒトにおける曝露量の比較

試験	用量 (mg/kg/日)	AZ5104 $AUC_{(0\text{-}24)}$ (nM·h)	AZ5104 C_{max} (nM)	AZ7550 $AUC_{(0\text{-}24)}$ (nM·h)	AZ7550 C_{max} (nM)
AZD9291 試験:					
ラット 1 カ月間	40 (雄)	ND	ND	1340	70.9
ラット 3 カ月間	20 (雌)	ND	ND	909	50.2
イヌ 1 カ月間	12	646	39.6	2450	199
イヌ 3 カ月間	6	ND	ND	579	41.0
AZ5104 探索試験:					
ラット 1 カ月間	15 mg/kg (雌)	4060	312	NA	NA
ヒト	80 mga	1600	80	1300	61

ND　分析の問題により算出不可

NA　該当せず

a　日本人進行 NSCLC 患者 32 例に AZD9291 錠剤を 80 mg の用量で投与したときの $C_{ss,max}$ 及び AUC_{ss} の算術平均［AURA 試験の第 II 相延長コホート］。

注　動物のデータは AZD9291 の試験（試験 3416AR、526248、1351AD 及び 526253。全て GLP に準拠して実施）及び AZ5104 のラット 1 カ月間探索毒性試験（試験 3500KR、GLP 非適用試験）の投与期間終了時の平均薬物濃度（イヌ試験では雌雄合算）である。

注　1 カ月間毒性試験で得られた検体を用いて測定された AZ7550 及び AZ5104 の血漿中濃度は、凍結保存安定性の問題により血液採取時の値よりも低かった可能性がある（薬物動態試験の概要文 2.6.4.2.1.2 項参照）。

2.4.3.7 代謝物の薬理活性

患者に AZD9291 を 80 mg の用量で投与したときの AZ5104 及び AZ7550 の血中曝露量はいずれも血中総薬物曝露量の 10%未満であり比較的低い。AZ5104 及び AZ7550 は、質的に AZD9291 と同様の有効性及び副次的薬理プロファイルを示しており（薬理試験の概要文 2.6.2.2.1 項参照）、AZ5104 の効力は AZD9291 よりも高いと考えられるが、AZ7550 の効力は概ね AZD9291 と同程度以下である。したがって、AZ5104 は臨床で AZD9291 の有効性及び忍容性プロファイルに寄与する可能性があるが、その寄与の程度については不明である。一方、AZ7550 の寄与はないと考えられる。

2.4.3.8 排泄

雌雄ラットに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口投与したときの放射能の排泄は速やかであり、投与後 48 時間までに投与放射能の 80%以上が排泄され、7 日後では 90.0～99.3%が排泄された。雌雄ラットともに投与された放射能は主に糞中に排泄され、尿中排泄はわずかであった。

雄イヌに[^{14}C]-AZD9291 を単回経口投与したときの放射能の排泄は緩徐であり、ばらつきがみられたが、投与 7 日後の排泄率は 85%以上であった。投与された放射能は主に糞中に排泄され、尿中排泄はわずかであった。

健康被験者に[^{14}C]-AZD9291 投与したときの放射能は、投与後 2016 時間までに投与量の約 67.8%が糞便へ、約 14.2%が尿へ排泄された（総回収率は 81.9%、臨床薬理試験 2.7.2.2.2.1.3 項参照）。放射能の多く（68.9%）は施設に滞在期間終了（投与後 504 時間）までに排泄され、残り（13%）は試験終了（投与後 2016 時間）までに排泄された。

2.4.3.9 薬物相互作用

2.4.3.9.1　　薬物相互作用の結果の解釈

AZD9291 で DDI が生じる可能性を *in vitro* 試験で評価した（臨床薬理試験 2.7.2 項も参照）。結果の解釈のために、ヒト血漿中濃度は絶食した NSCLC 患者に 80 mg 錠剤を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における血漿中 C_{max} を用いた。AZD9291 はヒト血漿中で不安定であることから、血漿蛋白結合率は測定されていない。しかし、AZD9291 は脂溶性（算出 LogP = 4.8）であり、血漿蛋白結合率は高いと考えられ、ヒト血漿中非結合率は 1%（結合率 99%）と予測されている。非結合型の割合が高いほど DDI が生じる可能性が高くなるため、DDI に関する本評価には、慎重を期して AZD9291 の血漿中非結合率を 10%（結合率 90%）と多く見積もり、定常状態における非結合型 C_{max} を算出した。代謝物 AZ5104 及び AZ7550 は *in vitro* で CYP の阻害作用を示したが、両代謝物の臨床における血漿中曝露量はいずれも AZD9291 の 25%未満であり、また、それらの阻害作用は AZD9291 よりも弱かったことから、相互作用の評価には含めなかった（FDA 2012、EMA 2012）。*In vitro* で実施した DDI 試験から得られた結果は、DDI の検討に関する欧州医薬品庁（EMA）ガイドライン（EMA 2012）、これに相当する米国食品医薬品局（FDA）ドラフトガイダンス（FDA 2012）及び厚生労働省（MHLW）ドラフトガイドライン（MHLW 2014）で推奨されている手法を用いて解釈した。これらの判断基準を用いて、80 mg の用量での溶解度及びバイオアベイラビリティが完全であると仮定すると、AZD9291 の最高腸内濃度（$[I_2]$）は 640 μM、最高総肝臓流入濃度（$[I_{in\ max}]$）は 11.45 μM、非結合型の最高肝臓流入濃度（$[I_{in\ free}]$）は

1.145 μM と算出される。空腹時における人工腸液（pH 6.5）中での AZD9291 メシル酸塩の溶解度は 10 mM（5 mg/mL）を超えるため、ヒトに 80 mg を経口投与した場合の濃度は、算出した薬物の[I_2]、[$I_{in\ max}$]及び[$I_{in\ free}$]の算出値に到達すると考えられる。

2.4.3.9.2　CYP を介する薬物相互作用の可能性

肝細胞及び各種遺伝子組み換え CYP 発現系における *in vitro* での AZD9291 の代謝の結果から、AZD9291 のクリアランスには主に CYP3A4/5 が関与すると考えられる。このことから、強力な CYP3A 阻害剤又は誘導剤との併用投与により AZD9291 のクリアランスが影響を受ける可能性が示唆された。

AZD9291 の CYP 酵素に対する直接阻害作用及び時間依存的阻害作用を、*in vitro* で検討した。直接阻害の測定では、AZD9291 は CYP3A4/5、CYP2C8 及び CYP1A2 に対して弱い阻害作用を示した（IC_{50} はそれぞれ 5.1、22.8、>25.7 μM）。前述の FDA 及び EMA ガイダンスに従って静的モデリングを用いると、腸の CYP3A4 に対して臨床上問題となるような直接阻害作用を示す可能性が示唆されるが、肝の CYP3A4/5 に対しては問題となるような作用を示さないと考えられる。AZD9291 は CYP3A4 に対して *in vitro* で弱い時間依存的な阻害作用を示すが（50 μM で阻害率 23%）、AZD9291 を 80 mg の用量で投与した患者で認められた曝露量（平均 C_{max} 0.78 μM、AURA 試験の第 II 相延長コホートのデータ）では、臨床上問題となるような相互作用は生じないと考えられる。AZD9291 は CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害剤（TDI）であった（k_I 及び k_{inact} はそれぞれ 1090 μM 及び 0.0617 min^{-1}）。

AZD9291 の CYP 誘導作用はヒト培養肝細胞を用いて検討した。AZD9291 は最高濃度（3.3 μM）で CYP3A4 及び CYP1A2 活性を誘導したが（陽性対照による反応のそれぞれ最大 45%及び 16%）、CYP2B6 の誘導はみられなかった。AURA 試験で得られた予備データから、AZD9291、AZ5104 又は AZ7550（いずれも CYP3A4/5 の基質）の曝露量は用量増加に比例して増加すること、また反復投与時に曝露量が低下することを示唆する結果はみられていないことから、本試験で検討した臨床用量では CYP3A4/5 の誘導はみられないと考えられる（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。しかし、CYP3A4、CYP1A2、CYP2C 又は P-gp に依存し、かつ治療係数が低い薬剤を併用する患者においては、AZD9291 投与中に併用薬剤の曝露量低下による治療効果の低下していないか十分に観察する必要がある。

2.4.3.9.3　薬物トランスポーターを介する薬物相互作用の可能性

薬物排泄トランスポーターの MDR1（P-gp）又は BCRP を遺伝子導入した MDCKII 細胞を用いた試験並びにヒト肝細胞を用いた取り込み試験において、AZD9291 は P-gp 及び BCRP の基質であるが、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示された。P-gp 及び BCRP による AZD9291 の排出は濃度依存的であったこと、AZD9291 のバイオアベイラビリティは中程度以上であること、また、非臨床動物における曝露量はほぼ用量に比例して増加することから、AZD9291 の血漿中曝露量は P-gp 阻害剤及び BCRP 阻害剤との併用投与により著しく影響を受けることは少ないと考えられる。

MDR1 を遺伝子導入した Caco-2 細胞及び MDCKII 細胞において、AZD9291 は BCRP を阻害するが（IC_{50} = 2.0 μM）、P-gp を阻害しないことが示された。また、遺伝子導入 HEK293 細胞において、AZD9291 は OATP1B1、OATP1B3、organic cation transporter（OCT）2、multidrug and toxin extrusion（MATE）1 及び MATE2-K を阻害するが（IC_{50} はそれぞれ 22、52.5、7.98、4.63 及び 23.0 μM）、organic anion transporter（OAT）1 及び OAT3 を阻害しないことが示された。80 mg の

用量での非結合型のヒト血漿中 C_{max} 及び前述の FDA 及び EMA が定めたパラメータの算出値を用いると、AZD9291 と BCRP 基質との DDI が生じる可能性を無視できないが、検討したその他のトランスポーターについては、それら基質との DDI が生じる可能性はないと考えられる。

したがって、生体内分布が CYP3A4 又は BCRP に依存し、かつ治療域が狭い薬剤を併用する患者においては、AZD9291 投与中に併用薬剤の曝露量増加によって忍容性に変化の徴候がないか十分に観察する必要がある。

2.4.3.9.4　UDP グルクロン酸転移酵素（UGT）を介する薬物相互作用の可能性

プールしたヒト肝ミクロソームを用いて、UDP グルクロン酸転移酵素（UGT）分子種 1A1 及び 2B7 の基質の代謝に対する AZD9291 の阻害作用を検討した。AZD9291 は UGT2B7 に対して阻害作用を示さなかったが、UGT1A1 に対しては検討した最高濃度で弱い阻害作用を示した（30 μM での阻害率 42%）。80 mg の用量での非結合型のヒト血漿中 C_{max} 及び前述の FDA 及び EMA が定めたパラメータの算出値を用いると、AZD9291 は臨床上問題となるような肝における DDI を引き起こさないと考えられる。しかしながら、小腸では高濃度となることから、小腸における UGT1A1 の阻害が生じる可能性があるが、その臨床における影響は知られていない。

2.4.3.10　薬物動態試験のまとめ

AZD9291 の関連ある非臨床動物種における薬物動態学的特性、*in vitro* におけるヒトでの代謝経路及び臨床使用における薬物相互作用の可能性を解明するために実施した一連の試験について記載する。主な結果は以下のとおりである。

- AZD9291 は、Caco-2 細胞において中等度の透過性を示し、非臨床動物種におけるバイオアベイラビリティは中程度以上である。AZD9291 の曝露量は、ほぼ用量に比例して増加する。
- AZD9291 は、脳及び腫瘍を含む組織に広範囲に分布する。
- ヒト *in vitro* 系における AZD9291 の代謝には主に CYP3A4/5 が関与するが、その生体での代謝には他の酵素も関与する。強力な CYP3A4/5 阻害剤又は誘導剤との併用投与により、AZD9291 の曝露量が変化する可能性がある。
- 薬理活性を有する 2 種類の代謝物 AZ5104 及び AZ7550（ヒト血中曝露量はいずれも血中総薬物曝露量の 10%未満）は、ラット及びイヌの血漿中においても認められた。AZ5104 は、AZD9291 を患者に投与したときに認められる安全性及び有効性に寄与する可能性があるが、AZ7550 にはその可能性はないと考えられる。これらの代謝物は、ヒトの排泄物中に最も多く存在した。
- ラット及びイヌに[^{14}C]-AZD9291 を投与したとき、放射能は主に糞中に排泄され、尿中に排泄される放射能量はわずかであった。この結果は、ヒトの場合と同様であった。
- AZD9291 は、ヒト薬物排泄トランスポーターである MDR1（P-gp）及び BCRP の基質である。
- AZD9291 は、*in vitro* で CYP3A4/5 に対して直接阻害作用及び弱い時間依存的な阻害作用を示す。CYP3A4/5 で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与時に増加する可能性がある。
- AZD9291 は、*in vitro* で BCRP に対して阻害作用を示す。BCRP で排泄される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与時に増加する可能性がある。

- AZD9291 は、*in vitro* でヒト肝細胞において CYP3A4 及び CYP1A2 を誘導する。CYP3A4 及び CYP1A2（並びに誘導される可能性のある CYP2C 及び P-gp）で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与時に低下する可能性がある。

本項に記載した非臨床薬物動態試験成績において、適応患者集団を対象として AZD9291 を使用することに特に懸念を示唆するデータは認められなかったと考えられる。

2.4.4　毒性試験

AZD9291 の毒性は、ラット及びイヌを用いた最長 3 カ月間の反復経口投与毒性試験（1 カ月間反復投与毒性試験には回復性の評価を含む）、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（雄受胎能はラット 3 カ月間反復投与毒性試験の一部として評価し、胚・胎児発生及び生後初期の生存／成長への影響をラットで評価した）並びに *in vitro* 光毒性試験で評価されている。含まれる可能性のある複数の不純物について、*in vitro* 遺伝毒性試験を追加実施した。本パッケージの一環として代謝物 AZ5104 及び AZ7550 を特徴づけ、AZ5014 については 1 カ月間の探索的試験でも評価した。

実施した毒性試験の概要を、用量を含めて毒性試験の概要表 2.6.7.1 に示す。これらの試験の重要な所見は以下の通りである：

- AZD9291 をラット及びイヌに最長 3 カ月間反復経口投与したときの主要な病理組織学的所見は野生型 EGFR の阻害に一致するものであり、所見としては用量に関連した萎縮性、炎症性及び／又は変性性の変化が、両動物種の皮膚、眼（角膜）及び消化管（舌を含む）の上皮並びに雌ラットの生殖器に認められた。白血球数増加及び赤血球パラメータ減少（ラット及びイヌ）並びに脾臓の造血亢進（ラット）は、これらの組織における変性性及び炎症性変化による二次的なものと考えられる。
- 用量制限性の毒性所見として、体重減少を伴う摂餌量減少（ラット及びイヌ）並びに眼の症状及び眼科学的所見（イヌにおける角膜上皮潰瘍／びらん及び結膜発赤）が認められた。
- 病理組織学的変化が雄性生殖器（主としてラット及びイヌの精巣における精細管萎縮／変性及び／又は精子細胞停留であり、ラット 3 カ月間反復投与毒性試験では雄受胎能への悪影響を伴っていた）及び雄の乳腺（ラットにおける腺萎縮）にみられたが、これらも本薬の薬理作用に関連する可能性がある。
- 泡沫状肺胞マクロファージ集簇の発現頻度増加が、ラット 3 カ月間反復投与毒性試験の雌雄で認められた。電子顕微鏡でこれらのマクロファージの特性を詳細に検討したところ、初期リン脂質症に一致する変化が雌にみられ、リポフスチン沈着（光学顕微鏡検査ではリポフスチン色素は検出されなかったが）又は多胞体が雌雄で認められた。これらの所見は概ね軽微から軽度であり、他の炎症性／変性性変化はみられなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。
- ラット 3 カ月間反復投与毒性試験の無影響量及び無毒性量は低用量の 1 mg/kg/日であった。イヌ 3 カ月間反復投与毒性試験では無影響量は確認されなかったが、無毒性量は中用量の 3 mg/kg/日であった。
- ラット及びイヌの 1 カ月間反復投与毒性試験で回復性を評価したところ、全ての所見（皮膚、眼、消化管及び雌雄の生殖器の病理組織学的変化を含む）について回復性が認められたが、1 カ月間の休薬中における一部の角膜の変化（ラットの角膜上皮萎縮及びイヌの角膜半透明化）の回復は部分的であった。

- ラット及びイヌを用いた重要な毒性試験において、代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の曝露が確認された。AZ5104 をラットに 1 カ月間経口投与したときの毒性プロファイルは AZD9291 と類似していた。これらの試験は、代謝物に関する十分な安全性評価を提供するものと考えられる。
- AZD9291 は *in vitro* 及び *in vivo* のいずれの試験においても遺伝毒性を示さなかった。
- AZD9291 を妊娠中又は授乳中のラットに投与したところ、本薬の薬理作用から予想された通り、胚の生存並びに生後初期の生存及び成長に重度の悪影響が認められた。
- AZD9291 の *in vitro* 光細胞毒性試験において、UV 光の存在下及び非存在下で光毒性を示すデータは認められなかった。
- AZD9291 原薬中に含まれる可能性がある 4 種の不純物の変異原性について、細菌を用いる復帰突然変異試験により評価したところ、このうち 2 種の不純物（　不純物A＊　及び　不純物B＊　）に変異原性が認められた。これらの不純物のコントロールについての更なる情報は CMC 資料、3 項に示す。

ICHQ3A(R2)ガイドラインで求められている全ての不純物について適切に安全性を確認した。メシル酸 AZD9291 の製造過程で生じる可能性のある変異原性不純物あるいは ICHM7 ガイドラインに示されているような分解産物を特定するための完璧な分析を実施した（不純物、3.2.S.3.2 項を参照）。変異原性あるいは変異原性を有する可能性のある不純物については規格値又は製造工程によって制御した（不純物、3.2.S.3.2 項を参照）。

AZD9291 の非臨床毒性プロファイルは、予定している適応症において許容可能なものと考えられる。

2.4.4.1 反復投与毒性試験

AZD9291 については、ラット及びイヌを用いた最長 3 カ月間の反復投与毒性試験が実施されている。これらの試験で得られた重要な所見を以下に示す。

ラットの試験

ラットを用いた反復投与毒性試験における用量制限毒性は、摂餌量減少及び重度の体重減少並びにそれに伴う軟便／液状便及び円背位といった一般状態の変化であった。これらの所見により、7 及び 14 日間用量設定試験では動物の途中安楽殺に至り（100 mg/kg/日以上の雄及び 40 mg/kg/日以上の雌）、3 カ月間反復投与毒性試験では短期間の休薬及びその後の高用量群の雄における減量が必要となった（8 週目に 40 mg/kg/日から 20 mg/kg/日に減量した）。7 及び 14 日間反復投与毒性試験では、これらの所見に伴って、上皮の萎縮、変性、潰瘍及び／又は炎症といった消化管の病理学的変化が認められた。3 カ月間の投与終了時にみられた病理学的変化の重症度は概ね軽微であった（食道、舌及び胃の上皮萎縮；軽度の潰瘍が高用量群の少数例で前胃のみにみられた）。

1 及び 3 カ月間投与後のラットにおける主要な標的器官（特に記載しない限り 10 mg/kg/日以上でみられた）は、眼（4 mg/kg/日以上での角膜上皮萎縮）、皮膚（表皮の炎症、潰瘍、痂皮形成及び過角化を伴う場合もある主として毛包／毛包周囲の炎症）、舌（上皮萎縮）、腸間膜リンパ節（20 mg/kg/日以上でみられた洞内赤血球及び赤血球貪食）、雄性生殖器（主として精巣における精子細胞停留及び／又は精細管変性。これに伴って 3 カ月間反復投与毒性試験では雄受胎能へ

＊新薬承認情報提供時に置換えた

の悪影響がみられた）及び雌性生殖器（子宮及び／又は腟の上皮菲薄化を伴う発情休止期像並びに／又は卵巣の黄体変性）であった。3 カ月間反復投与毒性試験では、更なる所見が 10 mg/kg/日以上の用量で消化管（食道及び胃の上皮萎縮）、脾臓（造血亢進）、肺（泡沫状肺胞マクロファージ集簇の発現頻度増加）及びハーダー腺（変性／再生）に、40/20 mg/kg/日で雄の乳腺（腺萎縮）に認められた。肺の所見を電子顕微鏡で更に特徴づけたところ、初期リン脂質症（雌のみ）及びリポフスチン沈着（光学顕微鏡検査ではリポフスチン色素は検出されなかったが）又は多胞体に一致する変化が観察された。

1 カ月間投与後に軽度の血液学的変化（ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少並びに白血球数の増加）がみられた。白血球数及びフィブリノゲンの軽度の増加は 3 カ月後にも認められた。

1 カ月間反復投与毒性試験でみられた全ての所見は 1 カ月間の休薬で完全に回復したが、例外として軽微な角膜上皮萎縮が 1/5 匹の雌で依然として認められた。

7 及び 14 日間用量設定試験において、忍容性のみられない用量又は忍容性が低い用量（40 mg/kg/日以上）でより高い曝露量を評価したときに確認された更なる標的器官は、胸腺及び骨髄（網状赤血球数及び白血球数の減少を伴う場合もある低細胞性）のみであった。

イヌの試験

14 日間用量設定試験における用量制限毒性として重度の摂餌量減少、体重減少及び一般状態の変化（嘔吐及び軟便／液状便等）がみられ、それによりイヌの途中安楽殺（20 mg/kg/日以上の雄及び 40 mg/kg/日以上の雌）に至った。これらの所見に伴って腸の病理学的変化（上皮の変性及び炎症）が認められた。

イヌの 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験における主な用量制限毒性所見は眼の症状（結膜発赤及び流涙等）及び眼科学的所見（角膜上皮潰瘍／びらんを伴う角膜半透明化）であり、そのため休薬及び減量が必要になった（1 カ月間反復投与毒性試験では 2 週目に高用量を 20 mg/kg/日から 12 mg/kg/日に減量し、3 カ月間反復投与毒性試験では 4 週目に 10 mg/kg/日から 6 mg/kg/日に減量した）。1 カ月間反復投与毒性試験では一部のイヌにおける摂餌量減少及び体重減少も 1 つの要因であった。これらの所見の回復又は回復傾向が、休薬後又は減量後に認められた。3 カ月間反復投与毒性試験において、高用量群の一部の動物で角膜半透明化が白濁に進行した（10/6 mg/kg/日の用量で 8 週目以降にみられた）。

1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験におけるイヌの主な標的器官は、眼（6 mg/kg/日以上での角膜上皮萎縮）及び精巣（1 カ月間投与後の 2 mg/kg/日以上及び 3 カ月間投与後の 10/6 mg/kg/日の用量での精細管萎縮）であった。1 カ月間投与後には、更なる所見が皮膚（20/12 mg/kg/日での表皮萎縮）及び消化管（6 mg/kg/日以上での舌の表皮萎縮並びに 20/12 mg/kg/日での小腸の粘膜萎縮及び炎症）が認められた。1 カ月間反復投与毒性試験でみられた全ての所見は 1 カ月間の休薬により完全に回復したが、例外として角膜半透明化は、発現頻度及び重症度は低下したものの、眼科学的検査で依然として観察された。

軽度の血液学的変化が、用量設定試験（主にヘモグロビン、ヘマトクリット及び赤血球数の減少並びに白血球数増加）、1 カ月間反復投与毒性試験（フィブリノゲン増加）及び 3 カ月間反復投与毒性試験（フィブリノゲン及び好中球数の増加）で認められた。

2.4.4.2 トキシコキネティクス

重要な 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験の動物における AZD9291 の総曝露量（AUC）を 80 mg の用量でヒトに投与したときの曝露量と比較した結果を表 2に示す [AURA 試験の第Ⅱ相

延長コホートにおける 80 mg の用量でのヒトの定常状態データに基づく；モジュール 2.7.2 最終のヒト曝露量データに関する臨床薬理の要約参照]。80 mg の用量でのヒトにおける曝露量は、重要な毒性試験の MTD で得られた曝露量と概ね同程度又はより高かった。1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験の高用量では用量制限毒性が確認されたが、抗がん剤では、患者の治療用量での血漿中濃度と同程度又はより低い濃度で、動物における安全性及び忍容性の限界がみられることは珍しくない（Collins et al 1990）。ラット及びイヌを用いた 7 及び 14 日間用量設定試験において、より高い曝露量（最大で 80 mg の用量におけるヒトの AUC 及び C_{max} の約 6～8 倍；モジュール 2.6.6 毒性試験の概要文、表 2 及び表 3 を参照）を検討したところ、その毒性プロファイルは重要な毒性試験でみられた所見と概ね一致していた。

同一用量における曝露量は、しばしば雄ラットより雌ラットの方が高く、これは用量設定試験において雄でより高い用量への忍容性がみられたことと一致する。その結果、1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験で選択した高用量は雌雄間で異なり、雄における用量は雌より高かったが、これは雌雄ともに確実に MTD を評価できるようにするためであった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の最高用量（30 mg/kg/日）における AZD9291 の群平均 AUC（21200 nM·hr）は、ヒトに 80 mg の用量で投与したときの値の約 1.4 倍であった。AZD9291 及び AZ7550 の曝露は胎児及び哺乳児でも確認され、後者は AZD9291 及びその代謝物の乳汁中排泄の可能性を示唆するものである。

1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験の最高用量で得られた代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の曝露量を、ヒトに 80 mg の用量で投与したときの曝露量と比較した結果を表 4に示す。AZ5104 については、80 mg 用量でのヒトにおける曝露量がイヌ 1 カ月間反復投与毒性試験で得られた曝露量より高かったが（この代謝物は他の重要な毒性試験では定量できなかった）、AZ5104 を雌ラットに経口投与した探索的 1 カ月間反復投与毒性試験ではより高い曝露量が認められた（80 mg を投与したヒトと比較して AUC は約 3 倍、C_{max} は約 5 倍；表 4参照）。AZ7550 については、80 mg 用量でのヒトにおける曝露量は重要な 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験の MTD で得られた曝露量と同程度又はより高かったが、例外としてイヌ 1 カ月間反復投与試験における曝露量はヒトより高かった（80 mg を投与したヒトと比較して AUC は約 2 倍、C_{max} は約 4 倍）。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

AZD9291 は細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ試験で変異原性を示さず、*in vivo* ラット小核試験で遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

本申請は進行癌の患者の治療を目的とした AZD9291 の使用に関するものであることから、ICHS9 ガイドラインに従い、がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラット及びイヌに 1 カ月間以上投与したとき可逆的な精巣の病理学的変化がみられ（ラットで 10 mg/kg/日以上、イヌで 2 mg/kg/日以上；2.4.4.1項参照）、ラット 3 カ月間反復投与毒性試験では 40/20 mg/kg/日の用量で雄受胎能への悪影響が認められた。

AZD9291 を 10 mg/kg/日以上の用量で雌ラットに 1 カ月間投与したところ、可逆的な病理学的変化が卵巣（黄体変性）及び雌性生殖器（発情休止期像及び時に上皮変性を伴う上皮菲薄化）に認められた。進行がんを適用とした申請であることから、ICHS9 ガイドラインに従い、いわゆる雌受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

胚・胎児発生及び生後初期の生存／成長への影響を、哺育期間を含めた変法によるラットの胚・胎児発生に関する試験で評価した。母動物毒性が 20 mg/kg/日以上の用量でみられた。ラットに 20 mg/kg/日の用量で着床前から妊娠 20 日まで投与したところ、着床後胚損失率の増加が認められた。主要な胚の器官形成期（妊娠 6～16 日）に投与したところ、20 及び 30 mg/kg/日の用量で胎児体重減少がみられた。母動物に妊娠期及び授乳期初期（妊娠 6 日から少なくとも分娩後 6 日まで）を通して投与したところ、20 mg/kg/日以上の用量で出生児生存率低下がみられ（30 mg/kg/日で 100%の同腹児死亡）、20 mg/kg/日以上の用量で出生児体重減少が認められた。胎児及び出生児において、被験物質投与に関連した外表異常及び内臓異常は認められなかった（30 mg/kg/日までの用量）。

2.4.4.6 その他の毒性試験

2.4.4.6.1　　光毒性の評価

UV 光の存在下及び非存在下で実施した *in vitro* 光細胞毒性試験において、AZD9291 は光毒性を示すデータは認められなかった。

2.4.4.6.2　　代謝物の毒性評価

AZ5104 及び AZ7550 のヒトにおける血漿中濃度は総循環血中薬物曝露量の 10%未満であったことから [AURA D5160C00001（NCT 01802632）試験において AZD9291 を 80 mg の用量でカプセル投与された患者 90 例（AUC については 87 例）からの予備的な定常状態データ（データカットオフ日は 2014 年 8 月 1 日）に基づく；モジュール 2.7.2 最終のヒト PK データに関する臨床薬理の要約参照] 、ICHM3(R2), 2009）ガイドラインに基づくと、これらの代謝物について特定の非臨床特性検討は必要ないと考えられる。しかしながら、毒性試験開始の時点でヒトにおけるこれらの代謝物の濃度は不明であり、いずれも薬理活性を有することから、ラット及びイヌの 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験（表 4参照）、ラットの胚・胎児発生に関する試験並びに GLP 適用の安全性薬理試験では、AZ5104 及び AZ7550 の全身曝露量を測定した。創薬段階において、AZ5104 を雌ラットに 1 カ月間経口投与したときの毒性を評価する探索的試験を実施した。生存期間中の所見、臨床病理検査所見及び病理組織学的所見は、AZD9291 をラットに投与したときにみられたものと一致していた。

In vitro 副次的薬理スクリーニングにおいて、これらの代謝物のプロファイルは AZD9291 と類似していることが示された（薬理試験の概要文、2.6.2.3 項参照）。

これらの試験は、予定している標的患者集団において、これらの代謝物に関する十分な安全性評価を提供するものと考えられる。

2.4.4.6.3　　不純物の毒性評価

不純物は AZD9291 メシル酸塩の製造工程で生成される不従物、あるいは ICH ガイドラインで安全性確認が必要な閾値が 0.15%と規定されている（ICHQ3A(R2)ガイドライン）不純物について

は、AZD9291 のラット 3 カ月間反復投与毒性試験で適切に安全性を確認した（2.6.6.9.7 項及び、規格及び試験方法の妥当性、3.2.S.4.5 項を参照）。

AZD9291 メシル酸塩の製造工程で生じる可能性のある変異原性不純物あるいは ICHM7 ガイドラインに示されているような分解産物を特定するための完璧な分析を実施した（不純物、3.2.S.3.2 項を参照）。ICHM7 及び ICHS9 ガイドラインによると、進行性非小細胞肺癌の患者では 100 µg/日（AZD9291 フリー体を 1 日 80 mg 投与した場合に基づくと AZD9291 メシル酸塩メシル酸中の [redacted] ppm に相当）までの変異原性不純物の摂取が許容されている。変異原性あるいは変異原性を有する可能性のある不純物については規格値又は [redacted] ppm を超えることはまずないとの評価により制御されており、結果的に製造工程によって管理されている（本規格値に関するより詳細な内容については、不純物、3.2.S.3.2 項を参照）。

2.4.4.7 毒性試験の考察

AZD9291 の非臨床毒性プロファイルは、本薬の薬理作用を大きく反映したものである。AZD9291 は変異型の EGFR を強力に阻害するが、野生型 EGFR 及び正常組織に発現する ErbB 受容体ファミリーのその他のメンバー（HER2 等）に対しては、より弱い阻害作用を示す（Yano et al 2003; Wieduwilt and Moasser 2008; Press et al 1990）。*In vitro* 薬理モデルにおいて、AZD9291 は、これらの密接に関連する受容体に対して高い選択性を示したが（2.4.2項参照）、毒性試験において MTD までの用量で評価を行った場合に、これらの受容体の阻害に伴う毒性がみられたことは予想外ではない。

反復投与毒性試験でみられた主要な病理組織学的所見は、眼の上皮（角膜）、消化管（舌を含む）、皮膚及び雌性生殖器の萎縮性、炎症性及び／又は変性性の変化であり、脾臓の二次的変化も認められた。同様の所見は、ゲフィチニブ、エルロチニブの他、アファチニブ（EGFR、HER2 及び HER4 の汎不可逆的阻害剤）及びラパチニブ（EGFR 及び HER2 に対する選択的な二重阻害剤）といった他の EGFR TKI を用いた動物試験においても報告されている。その他の標的器官は、雄性生殖器、雄の乳腺、腸間膜リンパ節、ハーダー腺、肺、骨髄及び胸腺であった。これらの所見について以下に考察する。

眼（角膜）

角膜上皮萎縮が、ラット及びイヌで 6 日間以上の投与後に観察された。14 日間反復投与毒性試験で少数例のラットにみられた軽微な視力低下は、これらの病理組織学的所見に関連している可能性がある。イヌでは、角膜半透明化が眼科学的検査で一部の動物に認められ、その発現に伴って角膜上皮の潰瘍／びらんの領域がみられたため、イヌにおける主要な用量制限毒性であった。これらの病変では投与 2 カ月目以降に角膜白濁への進行がみられた。

EGF は正常な眼のホメオスタシスにおいて重要な役割を果たし、角膜上皮の細胞分裂を刺激することが知られている（Carpenter and Wahl 1990; Schultz et al 1992; Kruse 1994; Tseng 1996）。カニクイザルに EGF を投与したところ、角膜上皮の過形成が誘発された（Reindel et al 2001）。したがって、AZD9291 投与動物でみられた角膜所見は、野生型 EGFR 阻害作用による結果と考えられる。また、他の EGFR 阻害剤でもラット及びイヌにおいて同様の角膜の変化が報告されている [Yano et al 2003 ; エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002 及びアファチニブ（商品名ギロトリフ）2013 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。

消化管

萎縮性、炎症性及び変性性の上皮変化が、ラット及びイヌの消化管（舌を含む）に認められた。7 及び 14 日間反復投与毒性試験において、これらの所見は高用量でより重度にみられ、それに伴って、これらの試験の用量制限毒性である摂餌量減少及び体重減少が認められた。摂餌量減少及び体重減少により、ラット 3 カ月間反復投与毒性試験では減量が必要になり、イヌ 1 カ月間反復投与毒性試験では高用量の減量の決定要因となり、投与期間終了時にみられた消化管の病理学的変化は軽度なものにすぎなかった。いずれの動物種においても軟便／液状便が散見された。

EGF は消化管の全ての部分の成長に対して重大な影響を及ぼすため、EGF の投与により唾液腺、舌、食道、胃及び腸の上皮過形成が誘発された（Vinter-Jensen 1999; Breider et al 1996; Reindel et al 1996）。したがって、AZD9291 投与動物の消化管における病理組織学的所見は野生型 EGFR 阻害の結果と考えられ、他の EGFR 阻害剤でもラット及びイヌにおいて同様の変化が報告されている [Brown et al 2008；エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002 及びアファチニブ（商品名ギロトリフ）2013 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。

皮膚

皮膚の変化がラット（主として毛包／毛包周囲の炎症がみられ、それに伴って表皮炎症／潰瘍、痂皮形成及び過角化が散見された）及びイヌ（表皮萎縮／変性）が認められた。EGF はケラチノサイトの増殖、分化、遊走及び生存における重要な調節因子であるため、EGF 受容体の欠如により毛包発達及び皮膚構造の変化が誘発される（Murillas et al 1995）。カニクイザルへの EGF の投与により表皮及び付属器の過形成が誘発された（Reindel et al 2001）。したがって、AZD9291 の試験における皮膚の所見は野生型 EGFR 阻害の結果と考えられ、他の EGFR 阻害剤でもラット及びイヌにおいて同様の変化が報告されている [Brown et al 2008；エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002 及びアファチニブ（商品名ギロトリフ）2013 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。

雄の乳腺

ラット 3 カ月間反復投与毒性試験において、雄で乳腺に腺萎縮が認められた。野生型 EGFR 及び HER2 を含む ErbB ファミリーメンバーは乳腺に発現し、この構造の成長及び発達の調節に関与すると考えられる（Wiesen et al 1999; Jones and Stern 1999; Jackson-Fisher et al 2004）。成獣のカニクイザルに EGF を投与したところ、乳腺において上皮の過形成が認められた（Reindel et al 2001）。乳腺はラパチニブを投与したラットの標的器官であることが確認されたが [EGFR 及び HER2 二重阻害剤；ラパチニブ（商品名タイケルブ）2007 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]、ゲフィチニブ、エルロチニブ及びアファチニブといった他の EGFR 阻害剤の標的器官としては報告されていない。したがって、AZD9291 投与ラットで観察された所見は本薬の薬理作用に起因する可能性があるが、雄の乳腺は一般に他の EGFR TKI の薬理作用の標的として報告されていないため、そのメカニズムは不明である。

ハーダー腺

EGF はハーダー腺において栄養作用を示すことが報告されていることから（Watanabe et al 1993、Breider et al 1996）、ラット 3 カ月間反復投与毒性試験でみられたハーダー腺の変性性の病理学的所見は、野生型 EGFR 阻害作用による二次的な変化の可能性がある。しかしながら、ハーダー腺は他の EGFR TKI の標的器官として報告されていないため、そのメカニズムは不明である。ヒトにはハーダー腺がないため、この所見の臨床的意義は限定的と考えられる。

造血系

ラット及びイヌでみられた白血球数及びフィブリノゲンの増加並びに赤血球パラメータの軽度の減少やラット 3 カ月間反復投与毒性試験でみられた脾臓の造血亢進は、皮膚及び消化管といった組織にみられた変性性及び炎症性変化による二次的変化と考えられる。同様の所見は他の EGFR 阻害剤でも認められている [Brown et al 2008；エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002 及びアファチニブ（商品名ギロトリフ）2013 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。

ラットで 1 及び 3 カ月後にみられた腸間膜リンパ節の所見（軽微から軽度の洞内赤血球及び赤血球貪食）は、他の変性性の変化及び赤血球分解に由来する色素を伴わなかったことから、毒性学的意義は小さいと考えられる。

ラットの 7 及び 14 日間反復投与毒性試験で胸腺及び骨髄の低細胞性がみられ、網状赤血球数及び白血球数の減少を伴う場合もあった。これらの変化は、重度の摂餌量減少、重度の体重減少及び毒性的な一般状態の変化がみられる忍容性のみられない用量又は忍容性の低い用量（40 mg/kg/日以上）で認められたが、これらの所見の発現メカニズムは不明であり、これらの変化は一部又は全部がストレスに関連している可能性がある（Pearse 2006; Everds et al 2013）。イヌ 14 日間反復投与毒性試験で重度の血小板数減少がみられたが、忍容性のみられない用量（40 mg/kg 以上）においてのみであり、それに伴う病理組織学的変化は認められず、そのメカニズムは不明であった。

肺

ラット 3 カ月間反復投与毒性試験で泡沫状肺胞マクロファージ集簇の発現頻度増加が雌雄にみられた。これらのマクロファージを電子顕微鏡により更に特性を明らかにしたところ、初期リン脂質症が雌にみられ、リポフスチン沈着（光学顕微鏡検査ではリポフスチン色素は検出されなかったが）又は多胞体が雌雄で認められた。多胞体の場合、野生型 EGFR は多胞体を介して処理され、受容体リサイクリング又はライソゾームによる分解を受けることが知られていることから（Eden 2009）、AZD9291 の投与によりこの過程が妨害される結果として、マクロファージの細胞質内にこれらの多胞体が蓄積する可能性がある。これらの所見は概ね軽微から軽度であり、肺にはこれらの所見に伴う他の炎症性又は変性性の変化はみられなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。イヌの試験では同様の所見は認められなかった。

反復投与毒性試験における重要な所見の回復性

1 カ月間反復投与毒性試験では、1 カ月間の休薬により高用量での所見の回復性を評価するための別の動物を設けた。3 カ月間反復投与毒性試験でみられた所見の大半は 1 カ月後にもみられたが、3 カ月後に新たな所見がみられた場合は、ICHS9 ガイダンスに従い、その病変の性質及び重症度並びにその器官系の再生能に基づいて回復の可能性を科学的に評価した。

ラット及びイヌの 1 カ月間反復投与毒性試験でみられた全ての所見（皮膚、眼、消化管及び雌雄性生殖器の病理組織学的所見を含む）には回復性が認められたが、一部の角膜の変化の 1 カ月休薬による回復は部分的であった。角膜上皮萎縮はイヌで完全な回復がみられ、ラットではほぼ完全に回復したが（1 カ月間の休薬後に雌 1/5 匹で軽微な角膜上皮萎縮が残存した）、イヌにおける角膜不透明化の回復は部分的であった。イヌで 3 カ月後にみられた角膜白濁は上皮萎縮を伴っていたが、変性性又は炎症性の浸潤は伴わなかった。しかし、他の EGFR 阻害剤であるゲフィチニブのイヌ 6 カ月間反復投与毒性試験でも同様の角膜白濁がみられ、12 週間の休薬では完全な回復はみられなかった（Yano et al 2003）。

ラット 3 カ月間反復投与毒性試験では、雄の乳腺、脾臓及び肺に更なる所見が認められた。雄の乳腺にみられた軽度の腺萎縮は、変性性又は炎症性の変化がみられなかったこと及び多くの上皮における既知の再生能に基づき、可逆的な変化の可能性があると考えられる。脾臓の造血亢進は、関連する皮膚及び消化管といった組織の変性性及び炎症性の変化の解消に伴って回復すると予想される。肺における泡沫状肺胞マクロファージ集簇の発現頻度増加は、肺の形態学的変化がみられなかったこと及びこの所見の程度が軽微から軽度であったことから、可逆的と予想される（Chatman et al 2009）。

生殖発生毒性

ラット及びイヌに 1 カ月間以上投与したとき精巣の病理学的変化がみられ、ラット 3 カ月間反復投与毒性試験では雄受胎能に悪影響が認められた。EGFR は精巣に発現し、精子形成の調節における EGF の役割を裏付ける *in vitro* 及び *in vivo* のデータがある（Wald 2005; Yan et al 1998）。雄性生殖器はアファチニブ （EGFR、HER2 及び HER4 の汎不可逆的阻害剤）の標的器官であることが確認されており、所見としてはラットにおける精子数減少、精巣のアポトーシス増加等が認められた [アファチニブ（商品名ギロトリフ）2013 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。他の EGFR 阻害剤（ゲフィチニブ及びエルロチニブ等）又は EGFR/HER2 二重阻害剤（ラパチニブ等）については、非臨床試験において精巣又は雄受胎能への影響は報告されていない [エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002 及びラパチニブ（商品名タイケルブ）2007 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。公表文献及びアファチニブでみられた変化に基づくと、AZD9291 投与動物でみられた精巣の所見は本薬の薬理作用に関連している可能性があるが、精巣は一般に大部分の EGFR 阻害剤の標的としては報告されていないことから、この所見の発現機序は不明である。

AZD9291 を 1 カ月間以上投与したラットでみられた卵巣（黄体変性）及び雌性生殖器（発情休止期像及び時に上皮変性を伴う菲薄化）の所見は、他の EGFR 阻害剤について報告されているものに一致する（Yano et al 2003 ; エルロチニブ 2004、ゲフィチニブ 2002 及びアファチニブ 2013 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ）。EGF は正常な卵巣機能の調節に役割を果たすことが知られており、カニクイザルに EGF を投与したところ子宮、子宮頸部及び腟の過形成が誘発されたことから。これらの所見は野生型 EGFR 阻害作用に関連すると考えられる（Chabot et al 1986; Assarsson et al 1995; Reindel et al 2001）。

EGF は胎盤の着床並びに胚の成長及び分化において大きな役割を果たすことが知られており、EGFR ノックアウトマウスでは成長遅滞、上皮発達障害並びに着床前後及び生後の致死性が誘発される（Miettinen et al 1995; Threadgill et al 1995; Sibilia and Wagner 1995）。他の ErbB ファミリーメンバーのノックアウトマウスにおいても、胚致死性及び周生期致死性が認められている（Wieduwilt and Moasser 2008）。したがって、妊娠期又は授乳期のラットへの AZD9291 の投与後にみられた胚並びに生後初期の生存及び成長における毒性変化は、本薬の薬理作用に基づくものと予想され、同様の変化はこのクラスの他の薬物でも報告されている [エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002 及びラパチニブ（商品名タイケルブ）2007 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。出生児においても AZD9291 及び AZ7550 の曝露が確認されたことから、AZD9291 及びその代謝物は乳汁中に排泄される可能性があることが示唆される。

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1 作用機序及び副次的薬理標的

AZD9291 の薬効薬理作用及び作用機序を非臨床 *in vitro* 及び *in vivo* モデルで検討した。 得られたデータにより、AZD9291 は T790M 耐性・活性化変異選択性かつ野生型非選択性 EGFR チロシンキナーゼ不可逆的阻害作用を有する経口投与可能な新規 EGFR-TKI であることが示された。更に、この作用により、EGFRm 又は EGFRm/T790M 変異を有する複数の *in vivo* 腫瘍異種移植モデルにおいて、臨床的に意義があると予想される用量で明らかな腫瘍退縮が認められた。

AZD9291 並びにその代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の副次的薬理評価は、ErbB ファミリーの他のメンバー（HER2 等）及びより広範なキノームからなるキナーゼパネル、並びに様々な受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素からなるパネルを用いて実施した。AZD9291 は標的外キナーゼに対して弱い作用を示したが、その有効性に寄与するほど明らかな作用ではなかった。また、AZD9291 は、他の多くの副次的薬理標的分子に対しても作用を示した。血漿蛋白結合率のデータがないため、臨床において AZD9291、AZ5104 及び AZ7550 の血漿中フリー体がこれらの副次的薬理標的分子にどの程度影響を及ぼすかを推測することは難しい。しかし、非臨床毒性試験及びこれまでの臨床試験における AZD9291 の忍容性プロファイルは、概して野生型 EGFR チロシンキナーゼへの作用に一致している。

AZ7550 は、一貫して、AZD9291 に類似した薬理プロファイルを示した。AZ5104 は質的には AZD9291 に類似したプロファイルを示したが、量的には一部で明らかな違いが認められた。AZ5104 は、変異型 EGFR チロシンキナーゼ及び野生型 EGFR チロシンキナーゼのいずれに対してもより強い作用を示したことから、野生型 EGFR チロシンキナーゼと比較したときの変異型 EGFR チロシンキナーゼへの選択性がより低いことが示された。AZ5104 の副次的薬理プロファイルは、質的には AZD9291 に類似していたが、IGF1R/InsR 及び ErbB2 といった主要な標的外分子に対する作用がより強かった。臨床での血漿中フリー体濃度との関連性において、これらの標的外に対する作用の重要性は不明である。

2.4.5.2 主要な安全性薬理所見

AZD9291 の心血管系、呼吸系、消化管系、視覚系及び中枢神経系に対する影響を安全性薬理試験で評価した。AZD9291 の癌を適応症としたこれらの試験で認められた明らかな所見は、*in vitro* での hERG に対する IC_{50} 値及び消化管輸送への影響のみであった。AZD9291 の臨床安全性及び忍容性プロファイルについては、臨床的安全性の概要 2.7.4 項に記載する。

AZD9291 は hERG カリウムチャネルを阻害し、その IC_{50} 値は 0.69 μM であったことから、本薬は、ヒトで十分な血漿中濃度に達した場合に、QT 間隔延長を引き起こす可能性が示唆された。しかし、*in vivo* 試験では、臨床的に意義のある血漿中濃度において、QTc 間隔への明らかな影響は認められなかった。

ラットにおいて、患者に 80 mg の用量を投与したときの C_{max}（0.78 μM）より低い血漿中濃度（≥0.226 μM）で、胃排出能の低下及び小腸輸送能の低下が認められた。その機序は不明であるが、反復投与毒性試験において、消化管は AZD9291 の標的器官であることが確認されており、既承認の他の EGFR-TKI（エルロチニブ及びアファチニブ）でもラットでの胃排出能抑制が報告されている（Erlotinib (Tradename Tarceva) 2004, Afatinib (Tradename Gilotrif) 2013）。

2.4.5.3 重要な毒性所見

AZD9292 の非臨床毒性プロファイルは本薬の薬理作用を大きく反映しており、他の EGFR TKI について報告されているもの [エルロチニブ 2004、ゲフィチニブ 2002、アファチニブ 2013 及びラパチニブ（商品名タイケルブ）2007 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ] と概ね一致している。AZD9291 は変異型の EGFR を強力に阻害するが、野生型 EGFR 及び正常組織に発現する ErbB 受容体ファミリーのその他のメンバー（HER2 等）に対してはより弱い阻害作用を示す（Yano et al 2003; Wieduwilt and Moasser 2008; Press et al 1990）。*In vitro* 薬理モデルにおいて、AZD9291 は、これらの密接に関連する受容体に対して選択性のマージンを示したが（2.4.2項参照）、毒性試験において MTD までの用量で評価を行った場合に、これらの受容体の阻害に伴う毒性がみられたことは予想外ではない。

AZD9291 をラット及びイヌに最長 3 カ月間経口投与したときの主要な病理組織学的所見は野生型 EGFR 阻害作用に一致するものであり、萎縮性、炎症性及び／又は変性性の上皮の変化が、皮膚、角膜（イヌの眼科的検査では角膜半透明化及び白濁を伴う）、消化管（舌を含む）及び雌性生殖器にみられ、脾臓の二次的変化も認められた。用量制限毒性の所見として、体重減少を伴う摂餌量減少（ラット及びイヌ）並びに眼の症状及び眼科学的所見（イヌにおける角膜上皮潰瘍／びらん及び結膜発赤）が認められた。白血球数増加及び赤血球パラメータ減少（ラット及びイヌ）並びに脾臓の造血亢進（ラット）は、これらの組織の変性性及び炎症性変化による二次的なものと考えられる。同様の所見は他の EGFR TKI でもみられており、これらはクラス効果と考えられる。これらの病理組織学的変化及び臨床病理検査の変化には回復がみられたが、1 カ月間の休薬中にみられた一部の角膜の変化（ラットの角膜上皮萎縮及びイヌの角膜半透明化）の回復は部分的であった。ゲフィチニブの非臨床使用経験（ゲフィチニブのイヌ 6 カ月間反復投与毒性試験で角膜白濁がみられ、12 週間の休薬では完全に回復しなかった；Yano et al 2003）に基づくと、イヌで 3 カ月後にみられた角膜白濁が回復するか否かは不明である。

ゲフィチニブ、エルロチニブ及びアファチニブといった EGFR TKI を投与された患者では、消化管（下痢等）及び皮膚（発疹、ざ瘡、皮膚乾燥及びそう痒症等）の副作用が高頻度にみられる（Melosky and Hirsh 2014）。これらの薬剤を投与された患者における眼の副作用（結膜炎、眼瞼炎、眼乾燥、睫毛成長障害等）の報告はより少ない（Agustoni et al 2014）。AZD9291 の臨床上の安全性プロファイルは進行性の非小細胞肺がん患者に使われる他の EGFR チロシンキナーゼ阻害剤と質的には同様と考えられ、軽度の胃腸関連事象（特に下痢）、皮膚関連事象（主に発赤、痤瘡、皮膚乾燥）及び爪の異常であった。AZD9291 投与患者にみられる最も一般的な副作用報告は、野生型 EGFR の阻害によるものである。.野生型 EGFR 阻害による重篤な副作用がみられる例が少ないこと及び重篤な水疱性で剥脱性の皮膚障害、消化管穿孔、出血性下痢といったの重篤な副作用がないことは、既承認の他の EGFR チロシンキナーゼ阻害剤に比較して AZD9291 の in vitro での野生型 FGFR に対する選択性のマージンが改善されていることを示すものと言える。AZD9291 投与によるとされる臨床的に重篤な眼球表面関連事象は報告されていない。AZD9291 の臨床安全性及び忍容性プロファイルに関する記述については、臨床安全性の要約 2.7.4 項を参照のこと。

ラットの雌性生殖器に可逆的な病理組織学的所見がみられたことから、AZD9291 はヒトの卵巣機能に可逆的な影響を及ぼす可能性があると考えられる。

雄性生殖器（ラット及びイヌにおける主として精巣の病理学的変化）及び雄の乳腺（ラットの腺萎縮）にみられた更なる所見も、これらの組織における EGF/EGFR 経路の生理的役割を考慮すると、AZD9291 の薬理作用に関連する可能性がある。ラットでは可逆的な精巣の病理学的変化に伴って雄受胎能への悪影響がみられたことから、AZD9291 はヒトにおいて男性の受胎能を可逆的

に障害する可能性がある。雄性生殖器はアファチニブの標的器官として確認され、雄の乳腺はラパチニブの標的器官として確認されたが、他の EGFR TKI（ゲフィチニブ、エルロチニブ等）の標的器官としては確認されていないことから、そのメカニズムは不明である [エルロチニブ（商品名タルセバ）2004、ゲフィチニブ（商品名イレッサ）2002、アファチニブ（商品名ギロトリフ）2013 及びラパチニブ（商品名タイケルブ）2007 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ]。

雌雄の生殖能への影響の可能性については、使用上の注意として適切に添付文書に反映する予定である。

AZD9291 を妊娠中及び授乳中のラットに投与すると胚の生存並びに生後初期の生存及び成長に重篤な悪影響を及ぼしたが、これは本薬の薬理作用に基づくと予想される変化であった。同様の所見は、このクラスの他の薬物でも報告されている（エルロチニブ 2004、ゲフィチニブ 2002、及びラパチニブ 2007 の FDA 新薬承認申請資料パッケージ）。哺乳児において AZD9291 及び AZ7550 の曝露が確認されたことから、AZD9291 及びその代謝物の乳汁中排泄の可能性が示唆される。全体として、これらのデータにより、AZD9291 を妊娠中又は授乳中の患者に投与すると、有害作用を及ぼす可能性があることが示唆される。本事象については、妊娠中又は授乳中の患者に AZD9291 を投与する際の使用上の注意として、適切に添付文書に反映する予定である。

AZD9291 は *in vitro* 及び *in vivo* において遺伝毒性を示さなかった。

AZD9291 の非臨床毒性プロファイルは、予定している適応症において許容可能なものと考えられる。

2.4.5.4 曝露量についての考察

AZD9291 並びに代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の血漿中濃度を安全性薬理試験、毒性試験及び臨床試験で測定した。

患者に AZD9291 を 80 mg の 1 日量で投与したときの定常状態における AZD9291 の平均血漿中曝露量（AUC 及び C_{max}）は、重要な 1 カ月間及び 3 カ月間毒性試験において MTD で到達した値と概ね同程度であった（表 2）。このため、これらの毒性試験での所見の大半は臨床曝露量を下回る濃度でみられ、安全域の算出はできなかった。動物の忍容性が限界となる血漿中濃度が、患者における治療用量での血漿中濃度と同程度か又はそれを下回る値となることは、がん治療薬では珍しくない（Collins et al 1990）。用量設定試験では、より高い曝露量を評価しているが、その毒性プロファイルは重要な毒性試験で認められた所見と概ね一致していた。また、ラットの胚・胎児発生に関する試験で認められた毒性変化は、患者に 80 mg の用量を投与したときの曝露量と同程度の曝露量で認められている。

重要な毒性試験における代謝物 AZ5104 及び AZ7550 の曝露量（AUC 及び C_{max}）は、ヒトに 80 mg の用量を投与したときの曝露量と概ね同程度か又はそれを下回るものであった（表 4、イヌの 1 カ月間毒性試験では、分析の問題のために AZ5104 のみが定量できたにすぎなかった）。AZ5104 については、ラットの 1 カ月間探索毒性試験で本代謝物を経口投与し、より高い曝露量で評価したところ、その毒性プロファイルは AZD9291 と同様であった。

2.4.5.5 薬物－薬物間相互作用の可能性

FDA（FDA 2012）、EMA（EMA 2012）及び厚生労働省（MHLW 2014）が推奨する手法を用いて、AZD9291 が併用投与薬物との DDI の相互作用薬又は被相互作用薬となる可能性について評価した。DDI に関連すると考えられる主な結果を以下に記載する。

AZD9291 及び代謝物 AZ5104 並びに AZ7550 は *in vitro* で主に CYP3A4/5 によって代謝され、ヒトにおけるこれらのクリアランスは CYP3A4/5 に依存すると考えられる。このため、強力な CYP3A4/5 阻害剤又は誘導剤との併用投与により、AZD9291 又はその代謝物の曝露量が影響を受ける可能性がある。

AZD9291 は *in vitro* で CYP3A4/5 を阻害するため（IC_{50} = 5.1 μM）、臨床関連濃度で、腸における DDI が生じる可能性を無視できないが、肝 CYP3A4/5 の直接阻害による相互作用が生じる可能性はないと考えられる。AZD9291 は、*in vitro* で CYP3A4 に対して時間依存的な弱い阻害作用を示す。このため、CYP3A4/5 で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与時に増加する可能性がある。

双方向透過性試験において、AZD9291 は *in vitro* で BCRP を阻害するが、P-gp は阻害しないことが示された。BCRP で排泄される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与時に増加する可能性がある。

AZD9291 は UGT1A1 の阻害剤（30 μM で 42.1%阻害）である。80 mg の用量での非結合型のヒト血漿中 C_{max} 及び前述の FDA 及び EMA が定めたパラメータの算出値を用いると、AZD9291 は臨床上問題となるような肝における DDI を引き起こさないと考えられる。しかしながら、小腸では高濃度となることから、小腸における UGT1A1 の阻害が生じる可能性があるが、その臨床における影響は知られていない。

AZD9291 は、*in vitro* でヒト肝細胞における CYP3A4 及び CYP1A2 を誘導する。このため、CYP3A4 及び CYP1A2（並びに誘導される可能性のある CYP2C 及び P-gp）で代謝される薬剤の曝露量は、AZD9291 との併用投与時に低下する可能性がある。

2.4.5.6 結論

これらの一連の非臨床試験は、EGFR-TKI の使用中又は使用後に病勢進行した、EGFR T790M 変異陽性の切除不能な進行・再発の NSCLC 患者の治療薬として AZD9291 を使用することの妥当性を支持するものである。

2.4.6　参考文献

Afatinib (Tradename Gilotrif) 2013

Pharmacology review section of the FDA approval package for afatinib (Gilotrif) NDA 201292. July 2013.

Agustoni et al 2014

Agustoni F, Platania M, Vitali M, Zilembo N, Haspinger E, Sinno V, Gallucci R, De Braud F and Garassino MC. Cancer Treatment Reviews 2014; 40: 197-203.

Arcila et al 2011

Arcila ME, Oxnard GR, Nafa K, Riely GJ, Solomon SB, Zakowski MF, et al. Rebiopsy of lung cancer patients with acquired resistance to EGFR inhibitors and enhanced detection of the T790M mutation using a locked nucleic acid-based assay. Clin. Cancer Res. 2011; 17: 1169-80.

Assarsson et al 1995

Assarsson B, Nilsson I and Selstam G. Ovarian levels of epidermal growth factor receptor mRNA in the rat - a postovulatory decrease. Acta Physiol Scand 1995;154(2):177-183.

Breider et al 1996

Breider MA, Bleavins MR, Reindel JF, Gough AW and de la Iglesia FA. Cellular hyperplasia in rats following continuous intravenous infusion of recombinant human epidermal growth factor. Vet Pathol 1996;33:184-94.

Brown et al 2008

Brown AP. Dunstan RW, Courtney, CL, Criswell KA, Grazio MJ. Cutaneous lesions in the Rat Following Administration of an Irreversible Inhibitor of erbB Receptors, Including the Epidermal Growth Factor Receptor. Toxicologic Pathology 2008; 35(3): 410-419.

Carpenter and Wahl 1990

Carpenter G and Wahl MI. The epidermal growth factor family. In: Sporn MB, Roberts AB, editors. Handbook of Experimental Pharmacology, Peptide Growth Factors and their Receptors. Berlin: Springer-Verlag; 1990: p. 69–171.

Chabot et al 1986

Chabot J-G, St-Arnaud R, Walker P and Pelletier G. Distribution of epidermal growth factor receptors in the rat ovary. Molec and Cell Endocrin 1986;44:99-108.

Chatman et al 2009

Chatman, L.A., Morton, D., O'Johnson, T.O. and Anway, S.D. Strategy for risk management of drug-induced phospholipidosis. Toxicologic Pathology 2009; 37: 997-1005.

Collins et al 1990

Collins JM, Grieshaber CK, Chabner BA. Pharmacologically Guided Phase I Clinical Trials based upon Preclinical Drug Development. J Natl Cancer Inst. 1990;82:1321-6

Cross et al 2014

Cross DA, Ashton SE, Ghiorghiu S, Eberlein C, Nebhan CA, Spitzler PJ, et al. AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer. Camcer Discov 2014; 4(9):1046-61.

Eden 2009

Eden ER, White IJ and Futter CE. Down-regulation of epidermal growth factor receptor signalling within multivesicular bodies. Biochemical Society Transations 2009; 37: 173-177.

EMA 2012

Guideline on the investigation of drug interactions (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr.*) 2012

Erlotinib (Tradename Tarceva) 2004

Pharmacology review section of the FDA approval package for erlotinib (Tarceva) NDA 21-743. November 2004.

Everds et al 2013

Everds NE, Snyder PW, Bailey KL, Bolon B, Creasey DM, Foley GL, Rosol TJ and Sellers T. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact and assessment. Toxicologic Pathology 2013; 41: 560-614

FDA 2012

Guidance for industry: Drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. Draft document 2012

Finlay et al 2014

Finlay MRV, Anderton M, Ashton S, Ballard P et al. Discovery of a potent and selective EGFR inhibitor (AZD9291) of both sensitizing and T790M resistance mutations that spares the wild-type form of the receptor. Journal of Medicinal Chem. 2014: 57, 8249-67.

Gefitinib (Tradename Iressa) 2002

Pharmacology Review section of the FDA Approval Package for gefitinib (Iressa) NDA 21-399. August 2002.

Hirsh 2011

Hirsh V. Managing treatment-related adverse events associated with EGFR tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small-cell lung cancer. Curr Oncol. 2011;18:126-38.

ICHS9, 2009

ICHS9 Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals (October 2009)

ICHM3(R2), 2009

ICHM3(R2) Guidance on Nonclincal Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (June 2009).

ICH S7A, 2000

ICH Topic S7A: safety pharmacology studies for human pharmaceuticals; November 2000.

ICH S7B, 2005

ICH Topic S7B: the non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals; May 2005.

ICH S10

Guidance on photosafety evaluation of pharmaceuticals.　(EMA/CHMP/ICH/752211/2012) 2012

Ings 1984

Ings RM. The melanin binding of drugs and its implications. Drug Metab Rev. 1984;15:1183-212

Jackman et al 2009

Jackman DM, Miller VA, Cioffredi LA, Yeap BY, Jänne PA, Riely GJ, et al. Impact of epidermal growth factor receptor and KRAS mutations on clinical outcomes in previously untreated non-small cell lung cancer patients: results of an online tumour registry of clinical trials.　Clinical Cancer Res. 2009 ; 15(16): 5267-73.

Jackson-Fisher et al 2004

Jackson-Fisher A, Bellinger G, Ramabhadran R, Morris JK, Lee K-F and Stern DF.　ErbB2 is required for ductal morphogenesis of the mammary gland.　PNAS 2004; 101(49): 17138-17143.

Janjigian et al 2014

Janjigian YY, Smit EF, Groen HJ, Horn L, Gettinger S, Camidge DR, et al.　Dual inhibition of EGFR with afatinib and cetuximab in kinase inhibitor-resistant EGFR-mutant lung cancer with and without T790M mutations. Cancer Discov. 2014;4:1036-45

Jones and Stern 1999

Jones FE and Stern DF.　Expression of dominant-negative ErbB2 in the mammary gland of transgenic mice reveals a role in lobuloalveoler development and lactation.　Oncogene 1999: 18: 3481-3490.

Kobayashi et al 2005

Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, Jänne PA, Kocher O, Meyerson M, et al.　EGFR mutation and resistance of non small-cell lung cancer to gefitinib.　N. Engl. J. Med. 2005; 352:786-92.

Kruse 1994

Kruse FE.　Stem cells and corneal epithelial regeneration.　Eye 1994;8:170-183.

Lapatinib (Tradename Tykerb) 2007

Pharmacology Review section of the FDA Approval Package for lapatinib (Tykerb) NDA 22-059. March 2007.

Liu et al 1994

Liu A, Flores C, Kinkead T, Carboni AA, Menon M and Seethalakshmi L.　Effects of sialoadenectomy and epidermal growth factor on testicular function of sexually mature male mice.　The Journal of Urology 1994; 152:554-561.

Leblanc et al 1998

Leblanc B, Jezequel S, Davies T, Hanton G, Taradach C.　Binding of drugs to eye melanin is not predictive of ocular toxicity.　Regul Toxicol Pharmacol. 1998 Oct; 28(2):124-32.

Maemondo et al 2010

Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR.　N. Eng. J. Med. 2010;362:2380-8.

Melosky and Hirsh 2014

Melosky B and Hirsh V. Management of common toxicities in metastatic NSCLC related to anti-lung cancer therapies with EGFR-TKIs. Frontiers in Oncology. 2014; 4:238.

MHLW 2014

「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（最終案）」厚生労働省医薬食品局審査管理課（平成 26 年 7 月 8 日）

Miettinen et al 1995

Miettinen PJ, Berger JE, Meneses J, Phung Y, Pedersen RA, Werb Z and Derynck R.　Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor.　Nature 1995; 376: 337-341.

Mitsudomi et al 2010

Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. The Lancet Oncology. 2010;11:121-8.

Mitsudomi and Yatabe 2010

Mitsudomi T & Yatabe Y. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. FEBS J. 2010; 277:301-8

Mok et al 2009

Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. N. Engl. J. Med. 2009; 361: 947-57

Murillas et al 1995

Murillas R, Larcher F, Conti CJ, Santos M, Ullrich A and Jorcano JL. Expression of a dominant negative mutant of epidermal growth factor receptor in the epidermis of transgenic mice elicits striking alterations in hair follicle development and skin structure. EMBO Journal 1995;14:5216-23.

Oxnard et al 2011

Oxnard GR, Arcila ME, Sima CS, Riely GJ, Chmielecki J, Kris MG, et al. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in EGFR-mutant lung cancer: distinct natural history of patients with tumours harboring the T790M mutation. Clin. Cancer Res. 2011; 17(6):1616-22

Pao et al 2005

Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. PloS Med 2005; 2: e73.

Pao et al 2010

Pao W, Chmielecki J. Rational, biologically based treatment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. Nature Reviews Cancer. 2010;10:760-74.

Pearse 2006

Pearse, G. Histopathology of the thymus. Toxicologic Pathology 2006; 34: 515-547.

Press et al 1990

Press MF, Cordon-Cardo C and Slamon DJ. Expression of the HER2/neu proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues. Oncogene 1990; 5: 953-962.

Reindel et al 2001

Reindel JF, Gough AW, Pilcher GD, Bobrowski WF, Sobocinski GP and de la Iglesia FA. Systemic proliferative changes and clinical signs in cynomolgus monkeys administered a recombinant derivative of human epidermal growth factor. Toxicologic Pathology 2001;29:159-173.

Reindel et al 1996

Reindel JF, Pilcher GD, Gough AW, Haskins JR and de la Iglesia FA. Recombi nant human epidermal growth factor induced structural changes in the digestive tract of cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). Toxicologic Pathology 1996;24:669-680.

Rosell et al 2012

Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. The Lancet Oncology. 2012;13:239-46.

Schultz et al 1992

Schultz G, Chegini N, Grant M, Khaw P, Mackay S (1992). Effects of Growth Factors on Corneal Wound Healing. Acta Opthalmologica 1992:70, Suppl.: 202:60-66

Schwartz et al 2014

Schwartz PA, Kuzmic P, Solowiej J, Bergqvist S, et al. Covalent EGFR inhibitor analysis reveals importance of reversible interactions to potency and mechanisms of drug resistance. PNAS 2014: 111:173-8

Sibilia and Wagner 1995

Sibilia M and Wagner EF. Strain-dependent epithelial defects in mice lacking the EGF receptor. Science 1995; 269: 234-238.

Sos et al 2010

Sos ML, Rode HB, Heynck S, Peifer M, Fischer F, Klüter S, et al. Chemogenomic profiling provides insights into the limited activity of irreversible EGFR Inhibitors in tumor cells expressing the T790M EGFR resistance mutation. Cancer Research. 2010;70:868-74.

Threadgill et al 1995

Threadgill DW, Dlugosz AA, Hansen L, Tennenbaum T, Lichti U, Yee D, LeMantia C, Mourton T, Herrup K, Harris RC, Barnard JA, Yusoa SH, Coffey RJ and Magnuson T. Targeted disrup tion of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype. Science 1995; 269: 230-234.

Tseng 1996

Tseng SCG. Regulation and clinical implications of corneal stem cells. Molec Biol Reports 1996;23:47-58.

Vinter-Jensen 1999

Vinter-Jensen L. Pharmacological effects of epidermal growth factor (EGF) with focus on the urinary and gastrointestinal tracts. APMIS 1999;107(Suppl 93):5-42.

Wakelee et al 2014

Wakelee H, Soria J, Camidge R, Gadgeel S, Goldman J, Varga A, et al.　Oral presentation 93O at the European Lung Cancer Conference (ELCC), Geneva, Switzerland, 26-29 March 2014.

Wald 2005

Wald M.　Epidermal growth factor and spermatogenesis. The Journal of Urology 2005;174: 2089-2090.

Ward et al 2013

Ward RH, Anderton MJ, Ashton A, Bethel PA, Box M, Butterworth S, et al.　Structure- and reactivity-based development of covalent inhibitors of the activating and gatekeeper mutant forms of the epidermal growth factor receptor (EGFR). J. Med. Chem. 2013;56:7025-48

Watanabe et al 1993

Watanabe H, Ohashi Y, Kinoshita S, Manabe R and Oshiden K.　Distribution of epidermal growth factor in rat ocular and periocular tissues.　Grave's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology 1993;231:228-232.

Wieduwilt and Moasser 2008

Wieduwilt MJ and Moasser MM.　The epidermal growth factor receptor family: Biology driving targeted therapeutics.　Cell Mol. Life Sci 2008; 65: 1566-1584.

Wiesen et al 1999

Wiesen JF, Young P, Werb Z and Cunha GR.　Signalling through the stromal epidermal growth factor receptor is necessary for mammary ductal development.　Development 1999;126:335-344.

Yan et al 1998

Yan YC, Sun YP and Zhang ML.　Testis epidermal growth factor and spermatogenesis.　Archives of Andrology 1998;40:133-146.

Yano et al 2003

Yano S, Kondo K, Yamaguchi M, Richmond G, Hutchison M, Wakeling A, et al.　Distribution and function of EGFR in human tissue and the effect of EGFR tyrosine kinase inhibition. Anticancer Res. 2003; 23:3639-50.

Yee 2012

Yee D. Insulin-like growth factor receptor inhibitors: baby or the bathwater?　J. Natl. Cancer Inst. 2012; 104: 975-81.

Yu et al 2013

Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, Sima CS, Zakowski MF, Pao W, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. Clin Cancer Res. 2013;19:2240-7.

Yun et al 2008

Yun CH, Mengwasser KE, Toms AV, Woo MS, Greulich H, Wong KK, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2008;105:2070-5.